

ИНСТРУКЦИЯ
по применению
медицинского изделия для диагностики in vitro

**Набор реагентов Coronavirus COVID-19 для экстракции и выявления РНК коро-
навируса методом ОТ-ПЦР FRT, COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of
Nucleic Acids», LOT 20080101.**

Версия инструкции для РФ № 2.



Перед использованием внимательно прочитайте инструкцию и соблюдайте ее.
Надежность результатов анализа не может быть гарантирована, если есть какие-либо отклонения от инструкции.

Наименование медицинского изделия*Полное наименование изделия.*

«Набор реагентов Coronavirus COVID-19 для экстракции и выявления РНК коронавируса методом ОТ-ПЦР FRT, COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids», LOT 20080101»

Краткое наименование

Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids »

Сведения о производителе (изготовителе) медицинского изделия.

Организационно-правовая форма и полное наименование юридического лица	Хунан Жунмэй Ген Технолоджи Ко., Лтд./ Hunan Runmei Gene Technology Co., Ltd.
Адрес (место нахождения) юридического лица	Room 401, Building No.3 in ChangSha Medical and Health Industrial Park, No.1048 Zhong Qing Road, ChangSha, Kai Fu District, Hunan, 410201 China (Офис 401, Здание № 3 Медикал Анд Хэлф Индастриал Парк Чанша, № 1048 Чжунцин Роуд, Район Кай Фу, провинция Хунан, 410201 Китай)
Номера телефонов	+86-731-89919680

Сведения об уполномоченном представителе производителя (изготовителя) медицинского изделия на территории РФ

Организационно-правовая форма и полное наименование юридического лица	Общество с ограниченной ответственностью «МедТех»
Сокращенное наименование юридического лица (в случае, если имеется)	ООО «МедТех»
Адрес (место нахождения) юридического лица	108814, г. Москва, километр Калужское шоссе 24-й (п. Сосенское), владение 1, строение 1, помещение XIV/эт. 7/ком. 43
Номера телефонов	+7 (495) 101-62-12
Адрес электронной почты юридического лица (в случае, если имеется)	info@medtehltd.com

Назначение медицинского изделия с указанием потенциального потребителя.

Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» Предназначен для экстракции и качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 в образцах мазков из носоглотки и ротоглотки человека методом ОТ-ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени», в качестве основного средства этиологической лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции (COVID-19) путем выявления РНК SARS-CoV-2 с помощью метода амплификации нуклеиновых кислот (МАНК).

Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» предназначен только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике.

Функциональное назначение, выполняемое с помощью набора «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» заключается в извлечении вирусной РНК коронавируса SARS-CoV-2 из мазка носоглотки и ротоглотки, при помощи уникально подобранной системы реагентов в совокупности с центробежной адсорбционной колонкой, которая специфически связывает вирусную РНК максимально удаляя примеси и белки.

Этот набор основан на принципе технологии флуоресцентного анализа методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. В извлеченной нуклеиновой кислоте при помощи флуорохромов - молекул, обладающих способностью к свечению в результате поглощения световой энергии, определяют РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Последовательно применяя реагенты входящие в набор, выявляют специальные праймеры и зонды Такмана для COVID-19 (ген ORF1ab / N) и обнаруживают их с помощью флуоресцентного ОТ-ПЦР-метода для достижения обнаружения нуклеиновых кислот COVID-19.

Кроме того, система обнаружения ОТ-ПЦР содержит праймеры и зонды внутреннего контроля для мониторинга, сбора образцов и процесса экстракции путем определения нормального внутреннего стандарта, чтобы избежать ложноотрицательных результатов.

Область применения

Клиническая лабораторная диагностика, профессиональное применение в учреждениях медицины и здравоохранения.

Показания к применению

Показание к применению набора «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» - определение этиологии острых респираторных инфекций, исследование клинического материала, полученного от лиц с подозрением на коронавирусную инфекцию, вне зависимости от формы и срока заболевания. Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» может применяться как для выявления острых случаев заражения SARS-CoV-2, так и для выявления случаев заражения этим вирусом в анамнезе.

Противопоказания к применению

- Нарушение условий хранения и транспортировки
- Истечение срока годности.

Требование к профессиональному уровню пользователей

Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» относится к медицинским изделиям для диагностики *in vitro*. Рекомендуется для профессионального использования обученным персоналом с высшим или средним медицинским образованием, имеющим навык работы с лабораторным оборудованием.

Специфическая патология, для обнаружения которой предназначено медицинское изделие

Коронавирусы относятся к порядку *Nidovirales*, семейству *Coronaviridae*, которое делится на три рода: α , β и γ . Коронавирусы родов α и β патогенны только для млекопитающих. Род γ вызывает инфекции в основном у птиц.

Новый коронавирус SARS-CoV-2 (прежнее название COVID-19) относится к роду β .

На сегодняшний день существует 7 типов коронавирусов человека HCoV, которые вызывают респираторные заболевания у людей: HCoV-229E, HCoV-OC43, SARS-CoV, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, MERS-CoV и новый коронавирус SARS-CoV-2, важный возбудитель респираторных инфекций у человека.

Коронавирус SARS-CoV-2 был обнаружен в 2019 году в связи с рядом случаев вирусной пневмонии в г. Ухань, Китай.

Инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2 (син. COVID-19-инфекция), является острым респираторным заболеванием.

Основным источником заражения являются больные COVID-19 - инфекцией и бессимптомные носители SARS-CoV-2. Вирус передается через прямой контакт с выделениями от больных, а также аэрозольным и воздушно-капельным путем. Существуют доказательства фекально-орального механизма заражения.

Согласно текущему эпидемиологическому расследованию, инкубационный период составляет от 1 до 14 дней, в основном от 3 до 7 дней. Основные проявления включают жар, усталость, сухой кашель, одышка. В некоторых случаях встречаются заложенность носа, насморк, боль в горле, миалгия и диарея. Заболевание может быстро развиваться в тяжелую пневмонию, дыхательную недостаточность, острый респираторный дистресс-синдром, септический шок, полиорганную недостаточность, тяжелые нарушения кислотно-щелочного обмена и т. п., и даже угрожать жизни больного.

Описание целевого анализата

Целевым анализом, выявляемым с помощью Набора «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids», является РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Коронавирусы имеют размер (80-220 нм). Вирион имеет оболочку, в которую встроены гликопротеины: поверхностный пепломер (гликопротеин S), мембранный гликопротеин М, малый оболочечный гликопротеин SM, гемагглютинин-эстераза (HE). Нуклеокапсид вируса — это протяженная, гибкая спираль, состоящая из геномной плюс-нити РНК и большого количества молекул нуклеокапсидного белка N. Вирусный геном — однонитевая спираль плюс-РНК.

Принцип анализа

Принцип действия Набора «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» — набор использует уникально подобранную систему буферных растворов и центробежную адсорбционную колонку, которая специфично связывает РНК коронавируса. Центробежные адсорбционные колонки могут эффективно и специфически адсорбировать вирусную РНК, а также максимально удалить всевозможные примеси и белки.

Этот набор основан на принципе технологии флуоресцентного анализа методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. В извлеченной нуклеиновой кислоте при помощи флуорохромов - молекул, обладающих способностью к свечению в результате поглощения световой энергии, определяют РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Последовательно применяя реагенты входящие в набор, выявляют специальные праймеры и зонды Такмана для COVID-19 (ген ORF1ab / N) и обнаруживают их с помощью флуоресцентного ОТ-ПЦР-метода для достижения обнаружения нуклеиновых кислот COVID-19.

Кроме того, система обнаружения ОТ-ПЦР содержит праймеры и зонды внутреннего контроля для мониторинга, сбора образцов и процесса экстракции путем определения нормального внутреннего стандарта, чтобы избежать ложноотрицательных результатов.

Технические характеристики медицинского изделия

Состав изделия:

«Набор реагентов Coronavirus COVID-19 для экстракции и выявления РНК коронавируса методом ОТ-ПЦР FRT, COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids», LOT 20080101.

Состав набора:

I. Набор для экстракции и изоляции вирусных нуклеиновых кислот, в составе:

- 1. Адсорбционная колонка – 50 шт;*
- 2. Пробирка для пробы – 50 шт;*
- 3. Лизирующий раствор – 1 фл.;*
- 4. Промывочный раствор 1 – 1 фл.;*
- 5. Промывочный раствор 2 – 1 фл.;*
- 6. Элюирующий раствор - 1 фл.;*

II. Набор для определения РНК коронавируса COVID-19 методом ОТ-ПЦР, в составе:

- 1. Реакционный раствор – 1 фл.;*
- 2. Ферментная смесь – 1 фл.;*
- 3. Отрицательный контроль – 1 фл.;*
- 4. Положительный контроль – 1 фл.;*

III. Инструкция по применению - 1 шт.

Перечень оборудования и материалов, которые требуются для проведения тестирования, но не содержатся в комплекте поставки медицинского изделия

1. Часы, таймер или секундомер
2. Одноразовый, стерильный зонд-тампон для взятия образца.
3. Одноразовые, стерильные полимерные пробирки с крышками для отбора, транспортировки и хранения биологических проб, объемом 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл.

4. Стерильный физиологический раствор (водный раствор хлорида натрия (NaCl) с массовой долей $\omega(\text{NaCl}) \approx 0,9\%$).
5. ПЦР – бокс.
6. Дозатор пипеточный, переменного объема (от 5 до 20 мкл) (от 10 до 100 мкл) (от 20 до 200 мкл).
7. Одноразовые наконечники для пипетирования (100 мкл, 200 мкл).
8. Стерильные пробирки для центрифугирования, объемом 1,5 мл.
9. Лабораторная центрифуга, максимальная скорость вращения, об/мин: 8000.
10. Центрифуга-вортекс, постоянная скорость вращения до 4500 об/мин.
11. Этиловый спирт 95,6% (абсолютный этанол).
12. Реакционная пробирка/ планшет для размещения образца.
13. Амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени (открытого типа), имеющий следующие минимальные характеристики или лучше:
 - напряжение питающей сети от 100 В до 240 В;
 - частота питающей сети 50/60 Гц
 - потребляемая мощность не более 550 Вт;
 - планшетный формат термоблока;
 - программируемый нагрев/охлаждение реакционного модуля элементами Пельтье;
 - точность поддержания температуры $\pm 0,2^\circ\text{C}$;
 - емкость термоблока (кол-во лунок) – не менее 48;
 - объем реакционной смеси - 10-50 мкл;
 - источник возбуждения - светодиод (LED);
 - количество источников возбуждения – не менее 4шт;
 - длины волн возбуждения по каналам, нм: 470, 530, 580, 630;
 - длины волн детекции по каналам, нм: 515; 560; 620; 660;
 - одновременная детекция сигнала в каждой лунке;
 - калиброванные красители (по каналам): Fam, Hex, Rox, Cy5.

Оборудование и материалы, применяемые для работы с изделием, должны быть зарегистрированы в установленном порядке.

Информация о наличии в медицинском изделии лекарственного средства для медицинского применения, материалов животного и (или) человеческого происхождения

В состав набора COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids, входят лекарственные средства, зарегистрированные в установленном порядке.

В состав набора COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids, не входят материалы животного или человеческого происхождения.

Сведения о стерильности.

Компоненты Набора «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» не являются стерильными и не нуждаются в стерилизации перед применением по назначению.

Таблица 1

Компонент	Характеристика, состав
Набор для экстракции и изоляции вирусных нуклеиновых кислот, в составе	
Пробирка для сбора пробы Адсорбционная колонка	Адсорбционная колонка, представляет собой мембрану, состоящую из секции загрузки с капиллярной шейкой, секции разделения и аналитической секции Габаритные параметры см. Рис. 1.
Лизирующий раствор	Состав: Гуанидина тиоцианат – 36,6 % (CAS-593-84-0), Три-тонХ-100 – 0,62%, (CAS – 9002-93-1), ДТТ-0,95% (CAS-27565-41-9), ЭДТА-0,46%, (CAS-60-00-4) Объем флакона 4 мл
Промывочный раствор 1	Состав: Гуанидина Гидрохлорид -16%,(CAS- 50-01-1), Протеиназа К – 0,005% (требуется добавление 14 мл. абсолютного этанола 95,6%) Объем флакона 14 мл
Промывочный раствор 2	Состав: Вода (CAS 7732-18-5); (требуется добавление 24 мл. абсолютного этанола 95,6%) Объем флакона 8 мл.
Элюирующий раствор	Состав: Трометанол – 0,78% (CAS- 77-86-1), ЭДТА – 0,46% (CAS-60-00-4) Объем флакона 3 мл

Набор для определения РНК коронавируса COVID-19 методом ОТ-ПЦР, в составе:	
Ферментная смесь	Объем флакона 150 мл. Состав: - Таq ДНК полимеразы (CAS-9012-90-2) - Нуклеотидилтрансфераза, дезоксирибонуклеат, РНК-зависимый (CAS- 9068-38-6)
Отрицательный контроль	Объем флакона 100 мл. Является физиологическим раствором. Состав: 100% физиологический раствор (CAS -7732-18-5)
Положительный контроль	Объем флакона 100 мл. Состав: Трис (гидроксиметил) аминметан - 0,2% рН от 7,0 до 9,2 (CAS-77-86-1) Является транскрипцией РНК которая содержит гены-мишени RFlab, N-ген и ген внутреннего контроля
Реакционный раствор	Объем флакона 850 мл. Состав: -Хлорид калия -0,15% (CAS-7447-40-7);

-Трис (гидроксиметил) аминометан - 0,2% pH от 7,0 до 9,2 (CAS-77-86-1); -Хлорид магния -0,15% (CAS-14989-29-8);
--

Примечание: Компоненты из разных партий (LOT) нельзя использовать взаимозаменяемо.

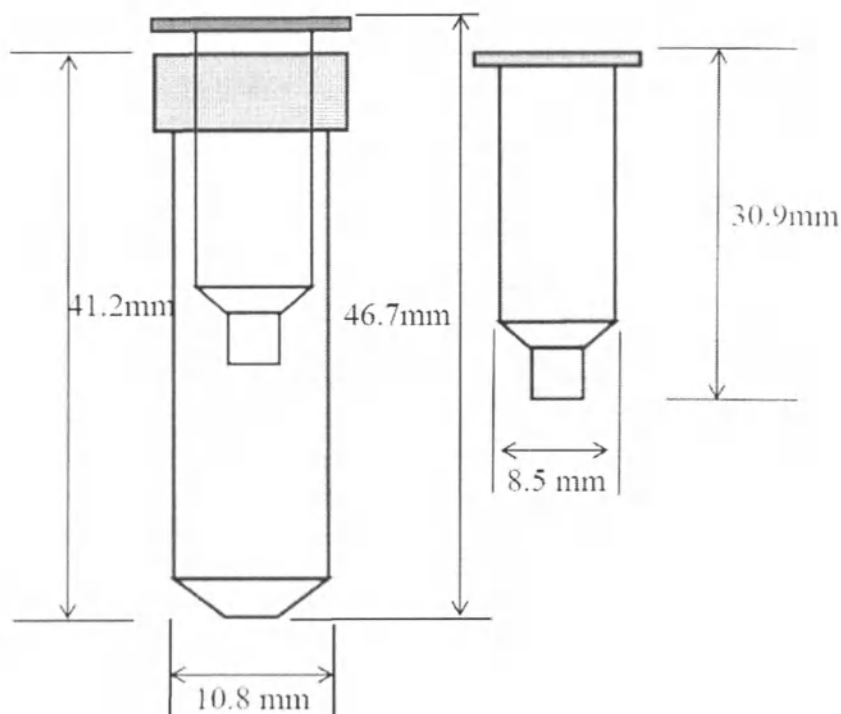


Рис. 1 Технические параметры пробирки для сбора образцов и абсорбционной колонки.

Информация для проверки правильности установки (монтажа) медицинского изделия и его готовности к безопасной работе эксплуатации.

Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» предназначен для эксплуатации в лабораторных условиях медицинских организаций и соответствующих климатических условиях (температура для эксплуатации 10 ~ 25 ° С, допустимая влажность 25% ~ 75%).

Монтаж, наладка, настройка, калибровка изделия не требуются.

Изделие не подлежит техническому обслуживанию и ремонту, очистке, дезинфекции и обработке для повторного применения.

Компоненты набора «COVID-19 coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» не являются стерильными и не нуждаются в стерилизации перед применением по назначению.

Реагенты не предназначены для смешивания и не могут быть заменены реагентами других партий.

Наборы подлежат хранению в замороженном виде при -15-25°C.

Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» рассчитан на проведение 50 тестов.

Набор «COVID-19 coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» совместим с различными Анализаторами флуоресцентными, для качественного определения методом ПЦР в режиме реального времени (открытого типа), зарегистрированными в установленном порядке.

-Установленная чувствительность: <500 копий/мл, время реакции: 1 час.

Тип анализируемого образца

Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» предназначен для тестирования образцов мазков из ротоглотки и носоглотки.

Объем подготовленного образца для тестирования 25 мкл.

Сбор, обработка и подготовка клинических образцов для тестирования

Забор образцов необходимо производить в специальных процедурных кабинетах в асептических условиях и соответствующих климатических условиях (температура для эксплуатации 10 ~ 25 ° С, допустимая влажность 25% ~ 75%).

Для сбора мазка необходимо использовать сухой стерильный тампон-зонд, для взятия образца зарегистрированный в установленном порядке. Сбор образца, производится в одноразовые, стерильные полимерные пробирки с крышками, объемом 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, с добавленным 500 мкл стерильного физиологического раствора 0,9%. Специальные среды для взятия и транспортирования образцов не применяются.

При возможности проведите тестирования немедленно, не оставляйте испытуемые образцы при комнатной температуре в течение длительного времени. Тест лучше всего работает на свежих образцах. Его можно провести с использованием мазка из носоглотки или ротоглотки.

Сбор образцов мазка носоглотки

Соберите образцы при помощи стерильного зонда-тампона, для этого: зонд вводится легким движением по наружной стенке носа на глубину 2-3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускается книзу, вводится в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делается вращательное движение и удаляется вдоль наружной стенки носа.

Сбор образцов мазка ротоглотки

Соберите образцы при помощи стерильного зонда-тампона, для этого: язык пациента прижимается с помощью шпателя. Зонд вводится легким движением в ротовую полость, не касаясь слизистой, проводится тампоном по правой миндалине, затем по дужке к язычку, потом по левой миндалине, дужке и язычку, извлекается тампон, не касаясь слизистой ротовой полости.

После забора материала конец зонда с тампоном опускается в одноразовую пробирку с физиологическим раствором и оставляется на 2 минуты, затем тампон отжимается. Пробирка герметично закрывается и маркируется. Тампон-зонд утилизируется, как медицинские отходы класса Б.

Пробирку с образцом закройте плотно крышкой и оставьте в штативе в вертикальном положении до процедуры тестирования.

При невозможности немедленного тестирования собранные образцы должны храниться при температуре + 4°C не более 24 часов. Если требуется более длительное хранение, образцы следует заморозить при температуре -70°C ±5. В замороженном виде, пробирки с образцами, в вертикальном положении, могут храниться длительное время.

Избегать повторных циклов замораживания-оттаивания. Допускается только трехкратное замораживание и размораживание образцов.

Следует помнить, что любые материалы человеческого происхождения необходимо рассматривать как инфекционные и обращаться с ними, используя стандартные процедуры биобезопасности.

Подготовка медицинского изделия к применению по назначению:

Исследование по назначению: «Предназначен для экстракции и качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 в образцах мазков из носоглотки и ротоглотки человека методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени», в качестве основного средства этиологической лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции (COVID-19) путем выявления РНК SARS-CoV-2 с помощью МАНК» - состоит из нескольких этапов:

- Изоляция вирусных нуклеиновых кислот из исследуемых образцов.
- Проведение одновременной реакции обратной транскрипции РНК и ПЦР-

амплификации с гибридизационно-флуорисцентной детекцией продуктов в режиме «реального времени».

- Анализ и интерпретация результатов.

Подготовка к тестированию:

Полученный образец тщательно перемешайте с физиологическим раствором перед центрифугированием.

Если образцы были заморожены, перед испытанием медленно доведите замороженные образцы до комнатной температуры и аккуратно перемешайте. Образцы, содержащие видимые твердые частицы, должны быть очищены центрифугированием перед исследованием.

Для анализа могут использоваться только образцы с высокой степенью чистоты, прозрачности и текучести. Избегайте использования слишком загустевших образцов.

Перед процедурой тестирования, реагенты набора необходимо довести до температуры +4°C, не допуская попадания света в зону подготовки реагента, Рассчитайте количество используемых реагентов по формуле: N (N = количество образцов + 1 положительный контроль + 1 отрицательный контроль).

Объем реакционной смеси для тестирования 4000 мкл. (аликвота готовится в соответствии с таблицей 2),

Таблица 2

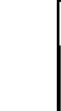
Компонент	Объем (μl)
Реакционный раствор	17
Ферментативная смесь	3
Общий объем реакционной смеси	20

Приготовленная смесь рассчитана на исследование 160 образцов. Смесь хранить при температуре -5/-25°C, не более 1 месяца. Использовать по мере необходимости.

Подготовка и извлечение пробы нуклеиновых кислот:

1. Подготовленный образец перенесите в центрифужную пробирку объемом 1,5 мл, еще раз перемешайте и добавьте 200 мкл. лизирующего раствора, перемешайте, при помощи магнитной мешалки, в течение 10 секунд.
2. Дайте отстояться 10 минут при комнатной температуре, затем добавьте 200 мкл абсолютного этанола 95,6 %, в центрифужную пробирку, перемешайте при помощи магнитной мешалки в течение 10 секунд.
3. Поместите Адсорбционную колонку в пробирку для сбора образца, перенесите пробу полученную вышеуказанным способом в Адсорбционную колонку, центрифугируйте при 8000 об / мин в течение 1 минуты и выбросьте фильтрат.
4. Добавьте 600 мкл промывочного раствора I в Адсорбционную колонку (убедитесь, что абсолютный этанол, был добавлен в промывочный раствор I перед использованием), центрифугируйте при 8000 об / мин в течение 1 минуты и выбросьте фильтрат.
5. Добавьте 600 мкл промывочного раствора II в Адсорбционную колонку (подтвердите, что абсолютный этанол был добавлен в промывочный раствор II перед использованием), центрифугируйте при 8000 об / мин в течение 1 минуты и выбросьте фильтрат.
6. Верните Адсорбционную колонку в пробирку для сбора образца и центрифугируйте при 8000 об / мин в течение 2 минут, выбросьте фильтрат и пробирку для сбора образца.

Таблица 3 (Технологический процесс)

	200µl		200µl		Пере-нос в		Враще-ние		Враще-ние		Враще-ние	
												
Об-разец	Лизи-рующий раствор		Абсо-лютный этанол		Ад-сорбирующая колонка		600µl промывочный раствор I		600µl промывочный раствор II		50µl раствор элюирования	

7. Поместите Адсорбционную колонку в пустую центрифужную пробирку объемом 1,5 мл, добавьте 50 мкл раствора для элюирования в центр мембраны адсорбционной колонки и оставьте ее при комнатной температуре на 1 минуту. Центрифугируйте при 8000 об / мин в течение 1 минуты, утилизируйте Адсорбционную колонку. Экстрагированную Нуклеиновую кислоту собранную в центрифужной пробирке объемом 1,5 мл хранить при температуре -20 ° С.



Рис 2.

Загрузка образца

Разнесите по 5 мкл. обработанной пробы нуклеиновой кислоты, отрицательный контроль COVID-19 и положительный контроль COVID-19 в реакционные пробирки/планшеты для ПЦР, в которые была добавлена реакционная смесь. Конечный объем пробы составляет 25 мкл. Плотно закройте пробирки крышкой или запечатайте мембраной, а затем немедленно амплифицируйте в анализаторе флуоресцентном для качественного определения ПЦР в режиме реального времени.

Амплификация с детекцией в режиме реального времени

1. Возьмите реакционную пробирку/планшет для ПЦР, поместите ее в соответствующее отделение резервуара для образцов анализатора флуоресцентного для качественного определения ПЦР в режиме реального времени и запишите последовательность размещения.

Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы -10 мкл.

2. Установите соответствующие параметры для амплификации нуклеиновых кислот в программе анализатора в соответствии со следующей таблицей (4) для ПЦР-амплификации.

Таблица 4

Шаг	Температура	Время	Циклы
1	50 °C	10 мин	1
2	95 °C	3 мин	1
3	95 °C	10 сек	40
	55 °C	30 сек	

Примечание:

1) Набор флуоресценции установлен на "Шаге 3: 55 ° C, 30с". Выбор каналов обнаружения: FAM и ROX, где канал FAM является геном ORF1ab и канал ROX является N-геном. Канал Cy5 - это ген внутреннего контроля, и реакционная система настроена на 25 мкл.

2) Анализаторы для флуоресцентного метода ПЦР серии ABI не выбирают калибровку ROX и не выбирают ее для группы подавления.

Установка условий для анализа результатов

Принцип регулировки базовой линии и порога обнаружения обычно основывается на результатах автоматического анализа прибора. Когда появляется общий наклон кривой, начальные, конечные и пороговые значения базовой линии могут быть скорректированы в соответствии с изображением. Обычно пользователь может настроить его в соответствии с фактической ситуацией. Начальное значение может быть установлено в районе от 3 до 15, а конечное от 5 до 20. Отрегулируйте кривую усиления отрицательного регулятора, чтобы сделать ее прямой или ниже пороговой линии.

Интерпретация результатов

1. Если в тестируемом образце обнаруживается типичная кривая усиления S-типа в каналах FAM и ROX и значение C_t составляет ≤ 38 , а в канале внутреннего контроля (Cy5) имеется типичная кривая усиления S - типа, то образец можно считать положительным COVID-19.

2. Если тестируемый образец не имеет кривой усиления или значения $C_t > 38$ в каналах FAM и ROX, а в канале внутреннего контроля (Cy5) имеется типичная кривая усиления S-типа, то образец можно считать отрицательным COVID-19.

3. Если тестируемый образец имеет значение $Ct \leq 38$ только в одном канале FAM или ROX, а в канале внутреннего контроля (Cy5) имеется типичная кривая усиления S-типа, то результаты необходимо повторно протестировать. Если повторенные результаты согласуются, то выборка может быть оценена как COVID-19 положительная, повторенные результаты отрицательны, за исключением типичной кривой усиления S-типа внутреннего канала управления (Cy5), которая может быть оценена как отрицательная COVID-19.

4. Если в каналах FAM, ROX и Cy5 тестируемого образца не обнаружено типичной кривой усиления S-типа (нет значения Ct) или значения $Ct > 38$, это означает, что существует проблема с качеством образца или проблема с операцией. Если результат недействителен, вы должны найти и устранить причину, снова собрать образец и повторить тест (если результат теста все еще недействителен, пожалуйста, свяжитесь с компанией).

Достоверность результатов

В результате изучения референтных значений было установлено, что референтное значение Ct гена-мишени и гена внутреннего контроля, установленного методом тестирования, составляет $Ct > 38$

Положительный контроль COVID-19: каналы FAM и ROX имеют типичные кривые усиления S-типа и значения $Ct \leq 32$. Внутренний канал управления (CY5) имеет типичные S-образные кривые усиления.

Отрицательный контроль COVID-19: каналы FAM, ROX и Cy5 не имеют значения Ct или имеют значения $Ct > 38$.

Предел обнаружения составляет 500 копий/мл.

Примечание: вышеуказанные условия должны быть выполнены одновременно, в противном случае тестирование является недействительным и должно быть проведено снова.

Ложноотрицательные результаты могут иметь место, когда концентрация обнаруженной нуклеиновой кислоты в тестируемом образце ниже минимального предела обнаружения.

Когда образцы перекрестно загрязнены во время сбора, транспортировки, хранения и обработки, легко получить ложноположительные результаты

Меры предосторожности

1. Класс потенциального риска применения - класс 3.
2. Только для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике
3. При использовании согласно инструкции по применению изделие является безопасным (не несет экологических и иных рисков).
4. Внимательно прочитайте инструкцию по применению, прежде чем проводить тестирование.
5. Не использовать по истечении указанного срока годности.
6. Рекомендуются обращаться со всеми образцами и использованными реагентами так, как если бы они были потенциальными источниками инфекционной опасности, работать в соответствии с практиками биологической безопасности Уровня 2, как описано в публикации Центров по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) и Национальных институтов здравоохранения (NIH): «Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях», или в других эквивалентных руководствах.

На территории РФ при работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования к безопасности». При работе с исследуемыми образцами необходимо соблюдать требования СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)», СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими

отходами» и МУ-287-13 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

7. Для предотвращения случайного заражения в клинично-диагностической лаборатории следует строго соблюдать следующие меры безопасности:
- Надевать перчатки во время работы с инструментами, контактирующими с биологическими жидкостями
 - Мыть руки перед выходом из зараженной области в чистую область или при снятии либо замене перчаток
 - Надевать средства индивидуальной защиты, такие как защитные очки, перчатки, лабораторные халаты или фартуки, при работе с возможными источниками биологического заражения. Не дотрагиваться руками до лица
 - Перед началом любой работы закрыть все неглубокие порезы и раны
 - Рабочая область должна быть продезинфицированной
 - Следует дезинфицировать все инструменты и другие предметы, находившиеся поблизости от образца или места для отходов
 - Прием пищи, напитков, курение, использование косметики или контактных линз во время нахождения в лаборатории запрещены
 - Запрещается пипетировать любую жидкость, включая воду, с помощью рта.
 - Запрещается брать в рот инструменты или другие предметы
 - Запрещается использование раковины для биологически опасных материалов для личных нужд, например, мытья чашек после кофе или рук

Ограничения процедуры

1. Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» предназначен только для тестирования *in vitro* образцов мазка взятого из носоглотки и ротоглотки.
2. Несоблюдение процедуры тестирования и интерпретации результатов может отрицательно сказаться на процессе тестирования и/или привести к получению недостоверных результатов.
3. Отрицательный и положительный контроль должен быть установлен при каждом тестировании.
4. Неправильное обращение с тестируемым образцом во время сбора, транспортировки, хранения и обработки может легко привести к деградации РНК и ложноотрицательным результатам.
5. Если реагенты из Набора «COVID-19 coronavirus Kit for PCR analysis of nucleic acids» будут храниться ненадлежащим образом, это может привести к неверным результатам.
6. Чтобы избежать деградации РНК, процесс обработки пробы следует проводить при температуре 0-4°C, а тестирование, следует проводить сразу после подготовки пробы.
7. Расходные материалы и лабораторная посуда, используемые при обработке образцов, не должны содержать нуклеазной активности.
8. Перед процедурой тестирования, все реагенты набора должны быть полностью разморожены и смешаны при комнатной температуре, а затем центрифугированы непосредственно перед использованием.
9. Отрицательный и положительный контроли набора должны быть перенесены в зону подготовки образца и храниться отдельно от реагентов набора.
10. Чтобы предотвратить интерференцию флуоресценции, избегайте прикосновения к реакционной пробирке ПЦР руками без перчаток и не наносите маркировку непосредственно на реакционную пробирку.
11. Параметры, связанные с чувствительностью анализатора, должны быть установлены в соответствии с требованиями настоящего руководства.
12. Процесс обнаружения должен выполняться строго в соответствии с требованиями настоящей инструкции, в зоне подготовки реагентов, зоне обработки образцов и зоне амплификации ПЦР, а рабочая одежда, инструменты и расходные материалы в каждой зоне должны использоваться индивидуально, независимо и не могут быть перемещены.
13. Зона обработки проб должна быть оборудована ламинарным боксом биологической

безопасности, обработка пробы должна выполняться в ламинарном боксе биологической безопасности, все зоны должны быть оборудованы рециркуляторами для ультрафиолетовой стерилизации воздуха.

14. Не допускается использование изделия после истечения срока годности.
15. Для утилизации проб и реагентов требуется предварительное обеззараживание и очистка. Реагенты токсичны. Утилизация в общую канализацию запрещена.

Аналитические и диагностические характеристики изделия

Аналитическая чувствительность и специфичность

Аналитическая чувствительность исследована на самом низком уровне концентрации аналита, который может быть точно обнаружен набором. Проведена оценка на основе самого низкого уровня концентрации, при котором целевой ген правильно обнаружен, и его частота обнаружения составила 95%. Согласно результатам исследований, 500 копий/мл — это самый низкий уровень концентрации, который может быть обнаружен на 100%, а расчетная чувствительность составляет 500 копий/мл.

Тестовое задание	Критерии приемлемости
Аналитическая чувствительность	500 копий/мл
Диагностическая чувствительность	100% (95% ДИ*: 92,5% - 100%)
Диагностическая специфичность	100% (95% ДИ: 92,5% - 100%)
Воспроизводимость	100%
ДИ – доверительный интервал.	

Предел обнаружения

Один образец мазка из ротоглотки с экспериментальным номером L-00-S1 был разбавлен 2019-псов-отрицательным образцом L-00-S2 с конечной концентрацией 500000, 50000, 5000, 500, 300 копий/мл соответственно.

Тест был повторен 3 раза с набором реагентов для каждого градиентного положительного образца, была посчитана скорость обнаружения различных уровней концентрации, используя 100%-ный минимальный уровень обнаружения и концентрации в качестве расчетного минимального предела обнаружения.

Используя метод микрочиповой цифровой ПЦР для отслеживания количества копий/мл, а затем логарифм I_g концентрации копий/мл в ординате (ось y), число циклов флуоресцентной ПЦР-амплификации СТ в абсциссе (ось X), построили стандартную кривую флуоресцентной ПЦР, используя стандартную кривую для определения концентрации копий/мл исходного образца, используемого в исследовании с минимальным пределом обнаружения.

(8) логарифмический график

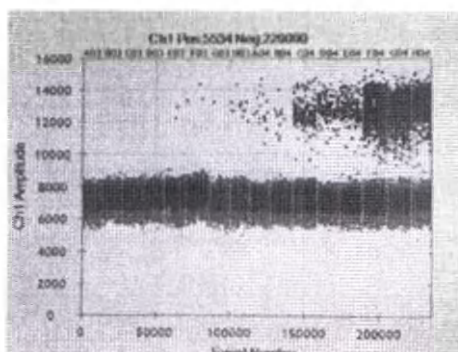


Рис. 1. Диаграмма результатов цифровой ПЦР

Стандартная кривая

$$y = -0.276x + 12.149$$

$$R^2 = 0.999$$

Номер цикла Ct

Рис. 1 Стандартная кривая флуоресцентной ПЦР

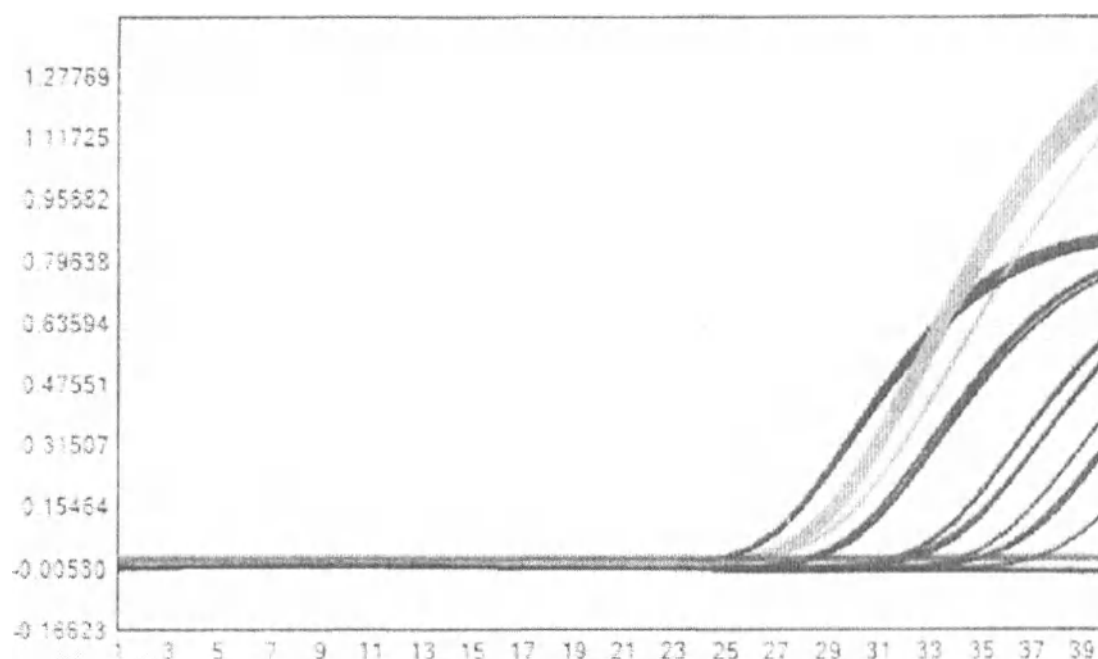
Точная частота обнаружения (количество положительных проверок/общее количество обнаружений) =100%.

Показано, что 500 копий/мл является 100%-ным обнаруживаемым минимального уровня концентрации, поэтому минимальный предел обнаружения оценивается в 500 копий/мл.

Показано, что концентрация в 500 копий/мл имеет минимальный процент обнаружения 95%, что подтверждает минимальный предел обнаружения в 500 копий/мл.

Таблица 5. Оценка минимальных пределов обнаружения на основе статистики результатов исследования

Номер	Уровень концентрации копий/мл	Общее число обнаружений	Количество положительных обнаружений	Количество не обнаруженных случаев	Процент правильных обнаружений
1	500000	3	3	0	100.00%
2	50000	3	3	0	100.00%
3	5000	3	3	0	100.00%
4	500	3	3	0	100.00%
5	300	3	1	2	33.33%



Номер цикла

Рис. 2. Расчетный предел обнаружения, график результатов исследования

Диагностическая чувствительность и специфичность

Объем выборки клинического исследования для определения диагностической чувствительности и специфичности составил 785 случаев подтвержденной COVID-19-инфекции в разные периоды заболевания.

Коэффициент вариации (CV) значений Ct составил менее 5 %.

Перекрестная реактивность

Исследование мазка из ротоглотки и носоглотки, инфицированного РНК коронавируса Sars CoV-2 верифицировали путем тестирования на перекрестную реактивность с патогенными инфекциями в генно-модифицированной ДНК человека. Результаты тестирования показали отсутствие перекрестной реактивности между набором и положительными образцами, на коронавирус человека HCoV-NL63, коронавирус человека HCoV-OC43, коронавирус атипичной пневмонии, коронавирус MERS, вирус гриппа А, вирус гриппа В типа Ямагата, Виктория, вирус гриппа H1N1, вирус гриппа H3N2, вирус гриппа H5N1, вирус гриппа H7N9, респираторно-синцитиальный вирус а, аденовирус (тип 2), аденовирус (тип 2), микопlasма пневмонии, хламидиоз пневмонии, коклюш, стрептококк пневмонии, риновирус (Тип А).

Результаты теста показали отсутствие перекрестной реактивности набора при исследовании в надлежащей концентрации не происходит.

Информация об интерферирующих веществах и ограничениях, связанных с пробой, которые могут повлиять на результат исследования.

Было исследовано влияние на результаты качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 следующих эндогенных и экзогенных веществ:

Вещество	Активные ингредиенты	Конечная концентрация
Муцин	Очищенный муцин	2,5% весовых частей
Кровь (человека)	Кровь (человека)	2% объемных частей
Назальный спрей или капли для носа	Фенилфорин	0,5 мг/мл
	Оксиметазолин	0.005% объемных частей
	Хлорид натрия	145 ммоль/л
Носовые кожные стероиды	Беклометазон	0,98 нг/мл

	Дексаметазон	989,2 нг/мл
	Флунинизон	1 мг/мл
	Триамцинолон	0,5 нг/мл
	Будесонид	4 нмоль/л
	Момисон	0,05%
	Флутиказон	0,05%
Лекарства для облегчения аллергических симптомов	Гистамин гидрохлорид	1 мг/мл
Противовирусные препараты	А-интерферон	100 ЕД/мл
	Занамивир	142 нг/мл
	Рибавирин	52,7 г/мл
	Осельтамивир	10 мкг/мл
	Парамивир	53,8 мкг/мл
	Лопинавир	13,5 мкг/мл
	Ритонавир	26,23 мкг/мл
	Абидор	658,5 мкг/мл
Антибиотик	Левифлоксацин	6,12 мкг/мл
	Азитромицин	20 мкг/мл
	Цефтриаксон	80 мкг/мл
	Меропенем	112 мкг/мл
Системные противомикробные препараты	Тобрамицин	4 мкг/мл

Добавление потенциально интерферирующих веществ не влияет на результаты качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2, это указывает на то, что интерферирующие вещества не влияют на обнаружение и интерпретацию результатов у образцов в условиях экспериментальной концентрации.

Результаты клинических испытаний, проведенных в РФ.

Аналитическая чувствительность составила <500 копий/мл.

Диагностическая специфичность составила 100 % (95% ДИ: 92,5% - 100%).

Диагностическая чувствительность составила 100 % (95% ДИ: 92,5%-100%).

Повторяемость результатов составила 100%.

Анализ рисков

При проведении анализа в соответствии со Стандартной рабочей процедурой «Применение характера и последствий отказов» (FMEA) серьезность опасных факторов, выявленных в отношении тестового устройства, оценивалась наиболее серьезные последствия, связанные с использованием изделия. Неверный результат обследования может привести к задержке с лечением и, соответственно, вероятному причинению вреда здоровью пациента. Ошибочный результат может привести к увеличению вероятности возникновения ложноотрицательного (снижение результативности выявления заболеваний, если они не будут обнаружены с помощью других методов) или ложноположительного (приводит к вероятности проведения ненужных подтверждающих тестов) заключения.

Риски были проанализированы в соответствии с действующими правилами. Потенциальные риски находятся в приемлемой области (ACC) и оправданной области (ALARP). В отношении рисков в ALARP необходимо принять определенные меры контроля.

Риски применения медицинского изделия, ожидаемые и предсказуемые побочные эффекты, связанные с применением медицинского изделия по назначению

Невозможность довести образцы и реагенты до необходимой температуры перед тестированием может снизить чувствительность анализа.

Неточный или неправильный сбор образцов, хранение или транспортировка может привести к ложно отрицательным результатам испытаний.

Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» не является источником электромагнитного, ионизирующего или какого-либо другого излучения, не создает электромагнитных помех.

Истечение срока годности не влияет на безопасность для пользователя при эксплуатации набора «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids».

Набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» не содержит веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

Не используйте набор или его компоненты после истечения срока годности.

Не используйте реагенты, если они изменили цвет или помутнели. Изменение цвета или мутность могут быть признаками микробного загрязнения. При появлении признаков пророста реагентов флаконы с реагентами должны быть утилизированы как медицинские отходы класса Б.

Все использованные образцы, лабораторную посуду и реагенты следует утилизировать, как биологически опасные.

Все испытываемые образцы должны быть тщательно перемешаны перед тестированием, чтобы обеспечить репрезентативный образец.

Необходимо соблюдать осторожность при хранении испытываемых образцов.

Условия хранения медицинского изделия и срок годности

Хранить набор «COVID-19 Coronavirus Kit for PCR Analysis of Nucleic Acids» следует при температуре -15 -25 °C. Расчетный срок годности составляет 12 месяцев.

После вскрытия флаконов с реагентами, срок хранения не должен превышать 1 месяц.

Допускается замораживание и размораживание реагентов не более 5 раз.

При соблюдении условий хранения в неповрежденной упаковке, изделие остается стабильным до истечения срока годности, указанного на внешней этикетке.

Изделия с истекшим сроком годности хранению не подлежат.

Смотреть дату производства и срок годности на этикетке.

Собранные образцы должны храниться при температуре +4°C не более 24 часов. Для длительного хранения, образцы следует заморозить и хранить при температуре -15-25 °C.

Избегать повторных циклов замораживания и размораживания. Допускается замораживание и размораживание реагентов не более 3 раз.

Экстрагированную Нуклеиновую кислоту собранную в центрифужной пробирке, хранить при температуре -15-25 °C

Условия транспортирования медицинского изделия

Транспортирование изделия должно производиться всеми видами крытого транспорта при отрицательных температурах окружающей среды или с использованием хладагента.

При соблюдении условий транспортирования и условий последующего хранения в неповрежденной упаковке, изделие остается стабильным до истечения срока годности, указанного на внешней этикетке.

Порядок и условия утилизации медицинского изделия

На территории РФ утилизация изделия должна соответствовать требованиям СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-13 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

После использования изделия, согласно инструкции по применению, и неиспользованные изделия с истекшим сроком годности утилизируются как медицинские отходы класса Б.

Гарантии производителя и правила приема рекламаций

Производитель гарантирует стабильность изделия до истечения срока годности, указанного на внешней упаковке при соблюдении условий хранения, транспортирования и инструкции по применению

Рекламации следует направлять авторизованным представителям производителя на территории РФ по адресу: ООО «МедТех» 108814, г. Москва, 24-й километр Калужского шоссе (п. Сосенское), владение 1, строение 1, пом. XIV, этаж 7, комн. 43

Тел : +7 (495) 101-62-12, e-mail: info@medtehltd.com

Контактные данные производителя

Производитель:

Hunan Runmei Gene Technology Co., Ltd. (Хунан Жунмэй Ген Технолоджи Компани, Лимитед)
Адрес: Room 401, Building No.3 in ChangSha Medical and Health Industrial Park, No.1048 Zhong Qing Road, ChangSha, Kai Fu District, Hunan, 410201 China

Уполномоченный представитель производителя в Европе:

Lotus NL B.V. Адрес: Koningin Julianaplein 10, le Verd, 2595AA, The Hague, Netherlands

Расшифровка символов на упаковке

	Обратитесь к инструкции по применению		Изделие для in vitro диагностики
	Хранить при температуре -15 / -25 °C		Код партии
	Содержимого достаточно для проведения <n> количества тестов		Годен до
	Запрет на повторное использование		Дата производства
	Маркировка CE		Производитель
	Уполномоченный представитель в Европейском союзе		Верх. При хранении держать в вертикальном положении
	Хрупкое, обращаться осторожно		Беречь от влаги
	Не допускать воздействия солнечного света		Утилизация совместно с бытовыми отходами запрещена
			



ПРОШТО И СКРЕПЛЕНО
Листа/Обл: 51