

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель генерального директора
по научно-производственной деятель-
ности федерального государственного
бюджетного учреждения «Центр стра-
тегического планирования и управле-
ния медико-биологическими рисками
здоровью» Федерального медико-био-
логического агентства (ФГБУ «ЦСП»
ФМБА России)

Г.А. Шипулин
«02» Сентября 2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

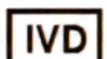
набора реагентов для выявления РНК коронавируса
SARS-CoV-2 генетических линий B.1.1.7 и B.1.351 / P.1
на основе определения характерных для них мутаций
в S гене методом полимеразной цепной реакции

«АмплиТест SARS-CoV-2 VOC v.1», серия CV013

по ТУ 21.20.23-013-01897400-2021



ФГБУ «ЦСП» ФМБА России,
Российская Федерация, 119121,
город Москва, Погодинская улица,
д. 10 стр. 1



ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ	3
ПРИНЦИП МЕТОДА	5
КОМПЛЕКТАЦИЯ	6
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	7
Воспроизводимость	8
Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала	9
ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	10
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ	13
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	16
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА ..	17
СОСТАВ	19
ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	20
ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ РНК И АМПЛИФИКАЦИЯ КДНК С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»	20
А. Подготовка проб для амплификации	20
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»	22
В. Анализ и интерпретация результатов	23
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	30
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	31
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	32

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

кДНК	- комплементарная ДНК, получаемая в реакции обратной транскрипции на матрице РНК
ГЭ	- геномный эквивалент – количество РНК-мишени (1 копия), содержащаяся в 1 геноме вируса
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
РНК	- рибонуклеиновая кислота
НК	- нуклеиновые кислоты
ПК	- положительный контроль экстракции РНК, обратной транскрипции и ПЦР, включает фрагмент РНК SARS-CoV-2
К-	- отрицательный контроль ПЦР, не содержит фрагменты РНК SARS-CoV-2
ОТ-ПЦР	- обратная транскрипция и ПЦР-амплификация
ОК	- отрицательный контроль экстракции РНК
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ПО	- программное обеспечение
РУ	- регистрационное удостоверение
СОП № 11 ПКО РНК SARS-CoV-2 W	- стандартный образец предприятия, содержащий фрагменты S гена SARS-CoV-2 без мутаций (дикого типа)
СОП № 12 ПКО РНК SARS-CoV-2 S N501Y / P681H / 69-70 del	- стандартный образец предприятия, содержащий фрагменты S гена SARS-CoV-2, включающие мутации N501Y, P681H и 69-70 del, характерные для генетической линии B.1.1.7
СОП № 13 ПКО РНК SARS-CoV-2 S E484K	- стандартный образец предприятия, содержащий фрагменты S гена SARS-CoV-2, включающие мутацию E484K
ФГБУ «ЦСП» ФМБА России	- Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства
FRT	- флуоресцентная детекция в режиме «реального времени»

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 генетических линий B.1.1.7 и B.1.351 / P.1 на основе определения характерных для них мутаций в S гене методом полимеразной цепной реакции «АмплиТест SARS-CoV-2 VOC v.1» по ТУ 21.20.23-013-01897400-2021, серия CV013 (далее - набор реагентов «АмплиТест SARS-CoV-2 VOC v.1», серия CV013) предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 генетических линий особого эпидемиологического значения (VOC) B.1.1.7 и B.1.351 / P.1 (без

дифференцировки) путем выявления характерных для данных линий мутаций в S гене коронавируса в образцах РНК, экстрагированной из биологического материала (мазки со слизистой носо- и ротоглотки), в которых обнаружена РНК SARS-CoV-2 методом анализа нуклеиновых кислот.

Показания и противопоказания к применению набора реагентов

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике острых респираторных инфекций для исследования образцов РНК из биологического материала, полученного от лиц, у которых выявлена коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 (COVID-19).

Материалом для проведения ОТ-ПЦР служат пробы РНК, полученные путем экстракции из биологического материала (мазки со слизистой носо- и ротоглотки), в котором была обнаружена РНК SARS-CoV-2 с помощью наборов реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2.

Противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда забор материала не может быть осуществлен по медицинским показаниям.

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

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

Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

Потенциальные пользователи медицинского изделия

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

Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия

Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип тестирования основывается на проведении реакции обратной транскрипции РНК и амплификации участков кДНК вируса SARS-CoV-2, включающих выявляемые мутации в гене S. Набор позволяет выявлять в гене S SARS-CoV-2 мутации N501Y, P681H и делецию 69-70del, сочетание которых характерно для генетической линии B.1.1.7, выявлять мутацию E484K, которая в сочетании с N501Y характерна для генетических линий B.1.351 и P.1 SARS-CoV-2, а также определять наличие каждой из указанных мутаций в отдельности.

С пробами РНК проводится обратная транскрипция (ОТ) РНК с помощью ревертазы и амплификация участков кДНК при помощи специфичных к этим участкам праймеров и фермента Taq-полимеразы. В составе реакционной смеси присутствуют флуоресцентно-меченые олигонуклеотиды, которые гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой кДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического 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».

Выявление мутаций коронавируса SARS-CoV-2 для одного образца проводится в трех пробирках. Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по 3 различным каналам: для ПЦР-смеси А по каналу для флуорофора FAM детектируется мутация N501Y в гене S, по каналу для флуорофора JOE - участок кодона 501 гена S без мутации N501Y в гене S; для ПЦР-смеси В по каналу для флуорофора FAM детектируется участок кодона 484 гена S без мутации E484K, по каналу для флуорофора JOE - мутация E484K в гене S; для ПЦР-смеси С по каналу для флуорофора FAM детектируется мутация P681H, по каналу для флуорофора ROX детектируется делеция 69-70del в гене S (см. табл. 1):

Таблица 1

Канал для флуорофора / ОТ-ПЦР-смесь	Детектируемая РНК-мишень		
	FAM	JOE	ROX
A	мутация N501Y в гене S SARS-CoV-2	участок кодона 501 гена S SARS-CoV-2 без мутации N501Y	-
B	участок кодона 484 гена S SARS-CoV-2 без мутации E484K	мутация E484K в гене S SARS-CoV-2	-
C	мутация P681H в гене S SARS-CoV-2	-	делеция 69-70del в гене S SARS-CoV-2

Выявление в препарате РНК SARS-CoV-2 сочетания мутаций N501Y, P681H и 69-70del, характерного для линии B.1.1.7, или сочетания мутаций N501Y и E484K, характерного для линий B.1.351 и P.1, интерпретируется как выявление генетических маркеров соответствующих линий SARS-CoV-2 (линии B.1.1.7 или линий B.1.351 / P.1 (без дифференцировки)). В случае выявления одного из этих сочетаний мутаций рекомендуется провести дальнейшее исследование образца методом автоматического секвенирования кДНК для определения наличия спектра других генетических маркеров, которые в совокупности с указанными мутациями определяют принадлежность к соответствующим генетическим линиям B.1.1.7, B.1.351 или P.1 SARS-CoV-2.

Исследование состоит из следующих этапов: выделение РНК (пробоподготовка), реакция обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации кДНК с одновременной детекцией результатов с использованием набора реагентов «АмплиТест SARS-CoV-2 VOC v.1», серия CV013.

Реагенты для выявления РНК не включены в состав набора. Выделение РНК проводят с использованием наборов, зарегистрированных в установленном порядке в РФ.

КОМПЛЕКТАЦИЯ

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F - комплект реагентов для обратной транскрипции РНК и амплификации фрагментов кДНК коронавируса SARS-CoV-2 (фрагментов гена S) для выявления мутаций, характерных для генетических линий B1.1.7,

В.1.351 / Р.1, с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Комплект реагентов рассчитан на проведение 300 реакций обратной транскрипции и амплификации, включая контроли.

Набор реагентов рассчитан на проведение 100 определений.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного набора реагентов применимы следующие характеристики:

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Таблица 2

Вид исследуемого материала	Комплект для ОТ-ПЦР	Аналитическая чувствительность (предел обнаружения), ГЭ/мл
Образцы РНК, полученные путем экстракции из биологического материала (мазки со слизистой оболочки носо- и рото-глотки)	«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F	1×10^3

Данный предел обнаружения достигается при соблюдении правил, указанных в разделе «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала».

Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность набора реагентов доказана при исследовании РНК штамма вируса SARS-CoV-2 № ГК2020/1 из коллекции ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи», РНК штаммов коронавирусов HCoV 229E, HCoV OC43, HCoV NI63, SARS-CoV HKU39849, MERS-CoV (European Virus Archive Global 011N-03868 - Coronavirus RNA specificity panel), штаммов вируса гриппа А (H1N1) (ATCC® VR-1469), вируса гриппа А (H3N2) (ATCC® VR-776) и вируса гриппа В (Victoria Lineage) (ATCC® VR-1930) из коллекции ATCC® (American Type Culture Collection, США), штаммов *Streptococcus pneumoniae* (№ 131116), *Streptococcus pyogenes* (№ 130001), *Haemophilus influenza* (№ 151221), *Staphylococcus aureus* (№ 201108), *Klebsiella*

pneumoniae (№ 180129) из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов (ГКПМ) ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, штаммов вируса парагриппа человека типов 1, 2, 3, риновируса человека 13, 17, 26 типов из Государственной коллекции ФГБУ «НИИ гриппа имени А.А.Смородинцева» Минздрава России в концентрации не менее 1×10^6 ГЭ/мл.

При тестировании вышеперечисленных образцов ложных положительных результатов (реакций) выявлено не было.

Для РНК штамма вируса SARS-CoV-2 № ГК2020/1 из коллекции ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» фиксировался результат: не обнаружено мутаций в кодонах 501, 484, 681 и 69-70 гена S SARS-CoV-2. Для всех образцов, не содержащих РНК SARS-CoV-2, получен результат: недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа.

Воспроизводимость

Воспроизводимость исследования была определена для набора реагентов в двух независимых лабораториях, разными операторами, в разные дни, на различных приборах путем тестирования трёх положительных и одного отрицательного клинических образцов в пяти повторях. Дискордантных результатов не обнаружено.

Результаты для набора реагентов представлены в табл. 3.

Таблица 3

Воспроизводимость исследования

Тип образцов / Результат	Внутри постановки (повторяемость)		Между лабораториями (воспроизводимость)	
	Количество образцов	Совпадение результатов, %	Количество образцов	Совпадение результатов, %
Образец № 1 Выявлены маркеры SARS-CoV-2 генети- ческой линии B.1.1.7 (сочетание мутаций в гене S, характерное для линии B.1.1.7)	5	100	10	100
Образец № 2 НЕ обнаружена РНК SARS-CoV-2 генети- ческих линий B.1.1.7, B.1.351 и P.1 (обнаружена мутация	5	100	10	100

Тип образцов / Результат	Внутри постановки (повторяемость)		Между лабораториями (воспроизводимость)	
	Количество образцов	Совпадение результатов, %	Количество образцов	Совпадение результатов, %
E484K и делеция 69-70del в гене S).				
Образец № 3 Выявлены маркеры SARS-CoV-2 генетической линии B.1.1.7 (сочетание мутаций в гене S, характерное для линии B.1.1.7)	5	100	10	100
Образец № 4. НЕ обнаружена РНК SARS-CoV-2 генетических линий B.1.1.7, B.1.351 и P.1	5	100	10	100
Образец № 5 Выявлены маркеры SARS-CoV-2 генетических линий B.1.351 / P.1 (сочетание мутаций в гене S, характерное для линий B.1.351 и P.1)	5	100	10	100

Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала

Интерферирующие вещества могут находиться в пробе клинического материала или попасть в неё на этапе пробоподготовки и транспортирования клинического образца. Набор реагентов «АмплиТест SARS-CoV-2 VOC v.1», серия CV 013 не используется на этапе пробоподготовки, предназначен только для анализа методом ОТ-ПЦР уже выделенных проб РНК. Для пробоподготовки применяются только зарегистрированные в РФ наборы реагентов для экстракции нуклеиновых кислот, что позволяет получать РНК-пробы без существенного содержания потенциально интерферирующих веществ.

Для контроля эффективности проведения ОТ-ПЦР в наборе реагентов предусмотрена одновременная обратная транскрипция фрагментов РНК и амплификация соответствующей кДНК для 2 участков S гена SARS-CoV-2 в 2 вариантах каждый - участка кодона 501 гена S без мутаций либо с мутацией N501Y и участка кодона 484 гена S без мутаций либо с мутацией E484K,

которые выполняют роль эндогенного внутреннего контрольного образца. В ходе реакции амплификации наличие сигнала, свидетельствующего о накоплении фрагментов кДНК участка кодона 501 гена S без мутаций либо с мутацией N501Y и участка кодона 484 гена S без мутаций либо с мутацией E484K (один из вариантов для каждого из 2 участков), говорит об отсутствии ингибирования ОТ и ПЦР и наличии РНК SARS-CoV-2, достаточного для анализа. При отсутствии сигнала, свидетельствующего о накоплении фрагментов кДНК двух названных участков S гена SARS-CoV-2 в одном из вариантов, результаты анализа не интерпретируются, фиксируется результат «недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа», что служит для исключения ложно-отрицательных результатов.

Непригодными для исследования являются образцы, объем, условия/срок хранения и транспортировки которых не соответствуют требованиям, указанным в разделе «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала».

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

По результатам проведенных клинических испытаний подтверждена эффективность медицинского изделия при использовании его в соответствии с назначением.

Диагностические показатели набора реагентов оценивали при анализе проб мазков со слизистой носо- и ротоглотки, предварительно охарактеризованных как содержащие РНК коронавируса SARS-CoV-2 в сравнении с референсным методом секвенирования ДНК и в сравнении с набором для выявления коронавируса SARS-CoV-2 линии B.1.1.7 на основе характерных мутаций в генах ORF1ab, S методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2 СКРИН B.1.1.7)" по ТУ 21.20.23-127-46482062-2021, серии G053S-2М, производства ООО «ДНК-технология ТС», РУ № РЗН 2021/13603. Наличие выявленных мутаций в гене S было подтверждено методом автоматического секвенирования кДНК.

**Результаты тестирования набора реагентов
«АмплиТест SARS-CoV-2 VOC v.1», серия CV013**

Тип образцов	Характеристика образцов		Результаты применения набора реагентов	
			Положительные (обнаружены указанные мутации)	Отрицательные (не обнаружены мутации)
РНК, полученная путем экстракции из мазков из носо- и ротоглотки	Всего исследовано 142 образца	Содержащие РНК SARS-CoV-2 с мутациями N501Y, P681H и 69-70del в S гене, характерными для генетической линии B.1.1.7	27	0
		Содержащие РНК SARS-CoV-2 с мутацией E484K в S гене (не содержащие других анализируемых мутаций)	31	0
		Содержащие РНК SARS-CoV-2 с мутациями E484K и N501Y – сочетанием, характерным для генетических линий B.1.351 и P.1	1	0
		Содержащие РНК SARS-CoV-2 без мутаций в кодонах 484, 501, 681 и 69-70 гена S	0	83

Для изучения диагностических характеристик были использованы 142 образца РНК из биологического материала (мазков из носо- и ротоглотки), содержащих вирус SARS-CoV-2, полученных от пациентов с установленной инфекцией COVID-19, включая:

- 27 образцов РНК из биологического материала (мазков из носо- и ротоглотки), содержащих РНК SARS-CoV-2 с мутациями N501Y, P681H и делецией 69-70del в S гене, характерными для генетической линии B.1.1.7;

- 31 образец РНК из биологического материала (мазков из носоглотки), содержащих мутацию E484K в S гене SARS-CoV-2;
- 1 образец РНК из биологического материала (мазка из носоглотки), содержащий РНК SARS-CoV-2 с мутациями E484K и N501Y в S гене SARS-CoV-2 - сочетанием, характерным для генетических линий B.1.351 и P.1;
- 83 образца РНК из биологического материала (мазка из носоглотки), содержащих РНК SARS-CoV-2 без анализируемых мутаций и других мутаций, характерных для генетических линий особого эпидемиологического значения, по данным полногеномного секвенирования (NGS).

Для образцов, содержащих РНК SARS-CoV-2 с мутациями, характерными для генетической линии B.1.1.7, было подтверждено наличие как 3 выявляемых набором реагентов мутаций, так и 3 других мутаций в гене S, характерных для B.1.1.7. Для 3 из этих образцов проведено полногеномное секвенирование по данным которого геномы изолятов отнесены к генетической линии B.1.1.7 по спектру характеризующих данную линию генетических маркеров (SNP). Для образца, содержащего РНК SARS-CoV-2 с мутациями E484K и N501Y в S гене SARS-CoV-2 методом секвенирования было подтверждено наличие этих мутаций и спектра других мутаций, характерных для генетической линии B.1.351.

Таблица 5

**Диагностические характеристики набора реагентов
«АмплиТест SARS-CoV-2 VOC v.1», серия CV013**

Тип образцов	Диагностическая чувствительность (с доверительной вероятностью 95 %)	Диагностическая специфичность (с доверительной вероятностью 95 %)
РНК, полученная путем экстракции из мазков из носоглотки	89,8-100 %	96,4-100 %

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Исследования по выявлению в клиническом материале коронавируса SARS-CoV-2 должны проводиться в соответствии с методическими рекомендациями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» в редакции МР 3.1.074-20 с Изменениями № 1 от 30.04.2020. 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 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий». В соответствии с п.2.1.6 СП 1.3.3118-13 диагностика возбудителей инфекционных болезней II группы патогенности молекулярно-генетическими методами (без накопления возбудителя) может проводиться в лабораториях, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами III группы патогенности в соответствии с требованиями санитарных правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (с изменениями на 29 июня 2011 года).

К работе с тест-системами для диагностики COVID-19 в лаборатории организаций допускаются специалисты, давшие письменное согласие и прошедшие инструктаж, проведенный сотрудниками лабораторий Роспотребнадзора, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных заболеваний человека II группы патогенности.

Сбор клинического материала и его упаковку осуществляет работник медицинской организации, обученный требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность микроорганизмами

II группы патогенности. Каждый образец материала помещают в отдельную транспортную емкость, обеспечивая в соответствии с таблицей методических рекомендаций МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19».

Все образцы, собранные для лабораторных исследований, должны рассматриваться как потенциально инфекционные, и медицинский персонал, который собирает или перевозит клинические образцы, должен строго соблюдать требования биологической безопасности как при работе с микроорганизмами II группы патогенности. Перевозка образцов должна осуществляться в соответствии с требованиями санитарного законодательства по отношению к микроорганизмам II группы патогенности.

Материал для исследований подлежит предварительной обработке в соответствии методическими указаниями МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». При работе необходимо всегда выполнять следующие требования: рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные; инактивировать исходные исследуемые образцы биологического материала в соответствии методическими указаниями МУ 1.3.2569-09.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Исследования проводятся в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.**

- Температура в помещениях лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75 %.**

- 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».**

- 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».**

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Экстракции, продолжать в Зонах Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- 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.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

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

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

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

- К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).

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

- Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

- 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.

- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и при необходимости обратиться за медицинской помощью.

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

- Информационное письмо о безопасности набора реагентов доступно по запросу.

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

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор реагентов безопасен.

Специфические воздействия комплекта реагентов на организм человека:

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

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Обратная транскрипция и амплификация с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации

1. Одноразовые полипропиленовые пробирки:

- завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США) 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, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США) – при использовании прибора планшетного типа;

- тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или

аналогичные) или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками (например, QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия) – при использовании прибора роторного типа.

2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США).

3. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (в соответствии с используемыми комплектами реагентов) (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США).

4. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», ЗАО «Ламинарные системы», Россия).

5. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия).

6. Автоматические или механические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия).

7. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени», имеющий 2 или более независимых каналов флуоресцентной детекции (Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH («Киаген ГмбХ»), Германия), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc. («Био-Рад Лабораториз, Инк.»), США), ДТпрайм («ДНК Технология», Россия).

8. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.

9. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.

10. Емкость для сброса наконечников.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Материалом для проведения ПЦР служат пробы РНК, полученные ранее на этапе экстракции из исследуемого материала (мазков со слизистой носо- и ротоглотки), в которых была обнаружена РНК SARS CoV-2 методом анализа нуклеиновых кислот.

Допускается хранение материала мазков со слизистой носо- и ротоглотки до проведения исследования в течение 3 суток при температуре от 2 до 8 °С, при температуре от минус 24 до минус 16 °С – не более 7 суток, при температуре не выше минус 70°С -

длительно, допускается однократное замораживание. Допускается хранение РНК, полученной из мазков, при температуре от минус 24 до минус 16 °С не более 7 суток, при температуре не выше минус 70°С - длительно, допускается однократное замораживание. Допускается транспортирование образцов РНК SARS CoV-2 при температуре от 2 до 8 °С в течение 4 часов.

ВНИМАНИЕ! Мазки со слизистой носоглотки и ротоглотки рекомендуется совмещать в одной пробирке и исследовать как один образец. Для этого берут мазки разными зондами сначала со слизистой нижнего носового хода, а затем из ротоглотки, при этом рабочие концы зондов после взятия мазков у пациента помещаются в одну пробирку с 0,5 мл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков и исследуются как один образец.

СОСТАВ

«ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F – комплект реагентов для обратной транскрипции РНК и амплификации фрагментов кДНК коронавируса SARS-CoV-2 (фрагментов гена S) и выявления мутаций, характерных для генетических линий В1.1.7, В.1.351 / Р.1, с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Часть 1			
ОТ-ПЦР-смесь-FL A	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-розового цвета	1,1	1 пробирка
ОТ-ПЦР-смесь-FL B	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-розового цвета	1,1	1 пробирка
ОТ-ПЦР-смесь-FL C	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-розового цвета	1,1	1 пробирка
ОТ-ПЦР-буфер-R	Прозрачная бесцветная жидкость	1,8	1 пробирка
Тaq полимераза	Прозрачная бесцветная жидкость	0,18	1 пробирка
Ревертаза (MMIv)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,09	1 пробирка
К-	Прозрачная бесцветная жидкость	0,4	1 пробирка
Часть 2			
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	2 пробирки
ПКО А	Прозрачная бесцветная жидкость	0,12	1 пробирка
ПКО В	Прозрачная бесцветная жидкость	0,12	1 пробирка
ПКО С	Прозрачная бесцветная жидкость	0,12	1 пробирка
ПКО W	Прозрачная бесцветная жидкость	0,35	1 пробирка

Комплект реагентов рассчитан на проведение 300 реакций обратной транскрипции и амплификации (всего 100 тестов), включая контроли.

Реагенты комплекта упакованы отдельно в соответствии с температурой хранения (см. раздел «Хранение»). Комплект реагентов состоит из 2-х частей: 1) температура хранения от минус 24 до минус 16 °С; 2) температура хранения от 2 до 8 °С.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Анализ состоит из следующих этапов:

- выделение РНК;
- обратная транскрипция РНК и амплификации кДНК с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени»,
- анализ и интерпретация результатов.

Выделение РНК проводят с использованием наборов реагентов для выделения РНК из биологического материала для дальнейшего проведения анализа с помощью методов амплификации нуклеиновых кислот, зарегистрированных в установленном порядке в РФ.

Внимание! Полученный препарат РНК необходимо в течение двух часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции с применением набора «АмплиТест SARS-CoV-2 VOC v.1», серия CV 013. Допускается однократное замораживание и хранение препарата РНК при температуре не выше минус 16 °С не более 7 суток.

ОБРАТНАЯ ТРАНСКРИПЦИЯ РНК И АМПЛИФИКАЦИЯ кДНК С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

Для внесения в пробирки реагентов, проб РНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.

А. Подготовка проб для амплификации

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

1. Рассчитать количество каждого реагента, требующееся для приготовления трех реакционных смесей. На одну реакцию требуется 10 мкл ОТ-ПЦР-смеси-FL А, или ОТ-ПЦР-смеси-FL В, или ОТ-ПЦР-смеси-FL С, 5 мкл ОТ-ПЦР-буфера-В, 0,5 мкл Taq полимеразы, 0,25 мкл Ревертазы (MMiv). Смесь гото-

вить на общее число исследуемых и контрольных образцов (количество контрольных образцов см. в пункте 6) плюс запас на одну реакцию.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ПЦР-исследования.

2. Разморозить пробирки с ОТ-ПЦР-смесью-FL А, ОТ-ПЦР-смесью-FL В и ОТ-ПЦР-смесью-FL С. Перемешать содержимое всех реагентов ПЦР-комплекта, осадить капли на вортексе.

В трех отдельных пробирках, маркированных А, В, С, приготовить три реакционные смеси. Смешать необходимое количество: ОТ-ПЦР-смеси-FL А, или ОТ-ПЦР-смеси-FL В, или ОТ-ПЦР-смеси-FL С, соответственно, ОТ-ПЦР-буфера-Р, Taq полимеразы, Ревертазы (MMiv), осадить капли на вортексе.

3. Отобрать необходимое (трехкратное) количество пробирок или стрипов для ОТ-ПЦР РНК исследуемых и контрольных проб, поставить в три ряда.

4. Внести в каждый ряд пробирок по одной из трех приготовленных реакционных смесей по 15 мкл на пробу. Неиспользованные остатки реакционной смеси выбросить.

5. В подготовленные пробирки внести по 10 мкл проб РНК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов.

ВНИМАНИЕ! Содержимое пробирок необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

6. Поставить контрольные реакции.

а) положительный контроль ОТ-ПЦР (ПК А) – в пробирку с реакционной смесью А внести 10 мкл ПКО А.

б) положительный контроль ОТ-ПЦР (ПК В) – в пробирку с реакционной смесью В внести 10 мкл ПКО В.

в) положительный контроль ОТ-ПЦР (ПК С) – в пробирку с реакционной смесью С внести 10 мкл ПКО С.

г) положительный контроль ОТ-ПЦР (ПК W) – в 3 пробирки с реакционными смесями А, В и С внести по 10 мкл ПКО W.

д) отрицательный контроль ОТ-ПЦР (К-) – в 3 пробирки с реакционными смесями А, В и С внести по 10 мкл К-.

е) отрицательный контроль экстракции (ОК) – в три пробирки с реакционными смесями А, В и С внести по 10 мкл

пробы, экстрагированной из ОКО (ОК не является обязательным контролем).

ВНИМАНИЕ! Содержимое пробирок необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

ВНИМАНИЕ! Провести ОТ-ПЦР сразу после соединения реакционной смеси и РНК-пробы и контролей.

Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»

1. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. табл. 6).

Таблица 6

Программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала для приборов планшетного¹ и роторного² типа

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция флуоресцентного сигнала по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин		1
2	95	15 мин		1
3	95	15 с	FAM, JOE, ROX	45
	60	30 с		
	72	15 с		

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

ВНИМАНИЕ! В случае неполной загрузки приборов планшетного типа рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки или стрипы (аналогичные используемым) по краям реакционного модуля амплификатора.

3. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.
4. По окончании выполнения программы приступить к анализу и

¹ CFX 96 (Bio-Rad), ДТпрайм (ДНК Технология, Россия)

² Rotor-Gene Q (QIAGEN)

интерпретации результатов.

В. Анализ и интерпретация результатов

Анализ полученных данных проводят с помощью программного обеспечения для управления амплификаторами, используемыми для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по следующим каналам и ПЦР-смесям:

Таблица 7

Канал для флуорофора / ОТ-ПЦР-смесь	Детектируемая РНК-мишень		
	FAM	JOE	ROX
A	мутация N501Y в гене S	участок кодона 501 гена S без мутации N501Y	-
B	участок кодона 484 гена S без мутации E484K	мутация E484K в гене S	-
C	мутация P681H в гене S	-	делеция 69-70del в гене S

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

Для анализа результатов **пороговая линия** устанавливается для каждого канала (для каждой смеси) на соответствующем уровне по отношению к конечному уровню графика флуоресцентного сигнала указанного ПКО (при использовании амплификаторов планшетного типа – табл.8) или на указанном уровне (при использовании амплификатора роторного типа – табл.9).

Таблица 8

Наименование ПЦР-смеси-FL	Канал для флуорофора	ПКО	Threshold / Пороговая линия – уровень по отношению к конечному уровню графика ПКО
А	FAM	ПКО А	10-20 % от конечного уровня указанного ПКО
	JOE	ПКО W	
В	FAM	ПКО W	
	JOE	ПКО В	
С	FAM	ПКО С	
	ROX	ПКО С	

Таблица 9

Наименование ПЦР-смеси-FL	Канал для флуорофора	Threshold / Пороговая линия
А	FAM	0,1
	JOE	0,2
В	FAM	0,1
	JOE	0,2
С	FAM	0,1
	ROX	0,1

Принципы интерпретации результатов следующие:

Таблица 10

Наименование ОТ-ПЦР-смеси-FL	Значение порогового цикла (Ct) по каналу для флуорофора			Результат
	FAM	JOE	ROX	
A	<u>определено</u> меньше граничного	Не учитывается	Не учитывается	Обнаружена мутация N501Y в гене S
	отсутствует	<u>определено</u> меньше граничного	Не учитывается	Не обнаружена мутация в кодоне 501 в гене S
	отсутствует	отсутствует или определено больше граничного	Не учитывается	Недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа *
	определено больше граничного	отсутствует или определено	Не учитывается	Сомнительный**
B	Не учитывается	<u>определено</u> меньше граничного	Не учитывается	Обнаружена мутация E484K в гене S
	<u>определено</u> меньше граничного	отсутствует	Не учитывается	НЕ обнаружена мутация в кодоне 484 в гене S
	отсутствует или определено больше граничного	отсутствует	Не учитывается	Недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа *
	отсутствует или определено	определено больше граничного	Не учитывается	Сомнительный**
C	<u>определено</u> меньше граничного	Не учитывается	<u>определено</u> меньше граничного	Обнаружена мутация P681H и делеция 69-70del в гене S
	отсутствует	Не учитывается	<u>определено</u> меньше граничного	Обнаружена делеция 69-70del, НЕ обнаружена мутация P681H в гене S
	<u>определено</u> меньше граничного	Не учитывается	отсутствует	Обнаружена мутация P681H, НЕ обнаружена делеция 69-70del в гене S
	отсутствует	Не учитывается	отсутствует	НЕ обнаружены мутации P681H и 69-70del в гене S***

Наименование ОТ-ПЦР-смеси-FL	Значение порогового цикла (Ct) по каналу для флуорофора			Результат
	FAM	JOE	ROX	
	определено больше граничного	Не учитывается	отсутствует или определено	Сомнительный**
	отсутствует или определено	Не учитывается	определено больше граничного	Сомнительный**

* В случае получения результата **Недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа** данная проба РНК не может быть проанализирована с помощью данного набора реагентов, поскольку содержание РНК SARS-CoV-2 в ней ниже аналитической чувствительности набора реагентов или РНК SARS-CoV-2 отсутствует.

** В случае получения **сомнительного результата** необходимо провести повторное ПЦР-исследование соответствующего исследуемого образца, начиная с этапа экстракции. В случае повторения аналогичного результата образец считать положительным. При получении отрицательного результата в повторной постановке образец считать сомнительным и рекомендовать повторное взятие материала для анализа.

*** Результат не учитывается в случае, если получен результат *Недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа* для ПЦР со смесью А и/или В

ВНИМАНИЕ! Граничные значения Ct указаны во вкладыше, прилагаемом к набору реагентов.

Общие результаты по выявлению мутаций РНК SARS-CoV-2 в S гене представлены в табл. 11.

Таблица 11

Результат с ПЦР-смесью А	Результат с ПЦР-смесью В	Результат с ПЦР-смесью С	Общий результат анализа
НЕ обнаружена мутация в кодоне 501 гена S	НЕ обнаружена мутация в кодоне 484 гена S	НЕ обнаружены мутация P681H и делеция 69-70del в гене S	НЕ обнаружена РНК SARS-CoV-2 генетических линий B.1.1.7, B.1.351 и P.1
Обнаружена мутация N501Y в гене S	НЕ обнаружена мутация в кодоне 484 гена S	Обнаружены мутация P681H и делеция 69-70del в гене S	Выявлены маркеры SARS-CoV-2 генетической линии B.1.1.7 (сочетание мутаций в гене S, характерное для линии B.1.1.7)
Обнаружена мутация N501Y в гене S	Обнаружена мутация E484K в гене S	НЕ обнаружены мутация P681H и	Выявлены маркеры SARS-CoV-2 генетических линий B.1.351 / P.1 (сочетание

Результат с ПЦР-смесью А	Результат с ПЦР-смесью В	Результат с ПЦР-смесью С	Общий результат анализа
		делеция 69-70del в гене S	мутаций характерное для линий В.1.351 и Р.1)
Обнаружена му- тация N501Y в гене S	НЕ обнаружена мутация E484K в гене S	НЕ обнаружены мутация P681H и делеция 69-70del в гене S	НЕ обнаружена РНК SARS-CoV-2 генетиче- ских линий В.1.1.7, В.1.351 и Р.1
НЕ обнаружена мутация N501Y в гене S	Обнаружена му- тация E484K в гене S	НЕ обнаружены мутация P681H и делеция 69-70del в гене S	НЕ обнаружена РНК SARS-CoV-2 генетиче- ских линий В.1.1.7, В.1.351 и Р.1
НЕ обнаружена мутация N501Y в гене S	НЕ обнаружена мутация E484K в гене S	Обнаружена де- леция 69-70del, НЕ обнаружена мутация P681H в гене S	НЕ обнаружена РНК SARS-CoV-2 генетиче- ских линий В.1.1.7, В.1.351 и Р.1
НЕ обнаружена мутация N501Y в гене S	НЕ обнаружена мутация E484K в гене S	Обнаружена му- тация P681H, НЕ обнаружена делеция 69-70del в гене S	НЕ обнаружена РНК SARS-CoV-2 генетиче- ских линий В.1.1.7, В.1.351 и Р.1
Недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа	Недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа	НЕ обнаружены мутация P681H и делеция 69-70del в гене S ***	Недостаточно РНК SARS- CoV-2 для анализа
Обнаружена му- тация N501Y в гене S	Недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа	НЕ обнаружены мутация P681H и делеция 69-70del в гене S ***	Недостаточно РНК SARS- CoV-2 для анализа
Недостаточно РНК SARS-CoV-2 для анализа	Обнаружена му- тация E484K в гене S	НЕ обнаружены мутация P681H и делеция 69-70del в гене S ***	Недостаточно РНК SARS- CoV-2 для анализа

Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для контролей этапов экстракции и амплификации участков кДНК в соответствии с табл. 12 и вкладышем, прилагаемым к набору реагентов.

**Результаты для контролей различных этапов
ПЦР-исследования**

Наименование ПЦР-смеси-FL	Контроль	Значение порогового цикла (Ct) по каналу для флуорофора		
		FAM	JOE	ROX
А	ПКО А	<u>определено</u> меньше гра- ничного	Не учиты- вается	Не учиты- вается
	ПКО W	Отсутствует	<u>определено</u> меньше гра- ничного	Не учиты- вается
	К–	Отсутствует	Отсутствует	Не учиты- вается
В	ПКО В	Не учиты- вается	<u>определено</u> меньше гра- ничного	Не учиты- вается
	ПКО W	<u>определено</u> меньше гра- ничного	Отсутствует	Не учиты- вается
	К–	Отсутствует	Отсутствует	Не учиты- вается
С	ПКО С	<u>определено</u> меньше гра- ничного	Не учиты- вается	<u>определено</u> меньше гра- ничного
	ПКО W	Отсутствует	Не учиты- вается	Отсутствует
	К–	Отсутствует	Не учиты- вается	Отсутствует

Возможные ошибки:

1. Для положительного контроля ОТ-ПЦР (ПК) значение порогового цикла (Ct) отсутствует или превышает граничное значение по каналам, на которых, согласно таблице 12, оно должно быть «определено меньше граничного». Необходимо повторить ПЦР-исследование для всех образцов.
2. Для отрицательного контроля ПЦР (К–) или (и) ОК определено значение порогового цикла (Ct) по одному или нескольким каналам. 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.

3. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла (C_t), 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.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 9 месяцев³. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов.

Транспортирование. Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств.

Набор реагентов при получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Хранение.

Часть 1 в составе реагентов ОТ-ПЦР-смесь-FL А, ОТ-ПЦР-смесь-FL В, ОТ-ПЦР-смесь-FL С, ОТ-ПЦР-буфер-R, Taq полимераза, Ревертаза (MMIv), К- хранить в морозильной камере при температуре от минус 24 до минус 16 °С. ОТ-ПЦР-смесь-FL А, ОТ-ПЦР-смесь-FL В, ОТ-ПЦР-смесь-FL С хранить в защищенном от света месте.

Часть 2 в составе реагентов ОКО, ПКО А, ПКО В, ПКО С, ПКО W хранить при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С.

Допустимо размораживать и замораживать реагенты «ПЦР-комплекта» не более 3 раз.

Холодильные и морозильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим.

³ Первоначальный срок годности установлен методом ускоренной оценки стабильности.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Рекламации на качество набора реагентов направлять по адресу 119121, г. Москва, Погодинская ул., дом 10 стр.1, e-mail: promlab@cspmz.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 регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Руководитель
производственной лаборатории

Ж.Е.Тарасова

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению



Код партии (серия)



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению



Температурный диапазон



Не допускать воздействия солнечного света



Изготовитель



Дата изготовления



Беречь от влаги

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью

Всего 75 (семьдесят пять) листов(а)

Заместитель главного врача К.Б. Колбутова
по лабораторному делу

