

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального бюджетного
учреждения науки «Центральный
научно-исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия
человека (ФБУН ЦНИИ
Эпидемиологии Роспотребнадзора)

В.Г. Акимкин

« 11 » сентября 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

стандартного образца предприятия № 286 «Положительный
контрольный образец, содержащий РНК SARS-Cov-2»
(СОП № 286 ПКО РНК SARS-Cov-2-rec)



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

1 ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ

1.1 Инструкция устанавливает порядок и условия применения стандартного образца предприятия № 286 «Положительный контрольный образец, содержащий РНК SARS-Cov-2» (СОП № 286 ПКО РНК SARS-Cov-2-гес), далее по тексту СОП, предназначенного для проведения испытаний методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией наборов реагентов «АмплиСенс® Cov-Bat-FL», АмплиСенс® COVID-19-FL, комплекта «РЕБЕРТА-L».

1.2. Проверку упаковки, маркировки и целостности СОП № 286 ПКО РНК SARS-Cov-2-гес проводят путем внешнего осмотра.

2 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ. УДАЛЕНИЕ ОТХОДОВ

При работе с СОП и при постановке ПЦР следует соблюдать положения 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 всегда следует выполнять следующие требования:

- Использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы.
- 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.
- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

3 МАТЕРИАЛЫ, ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И УСЛОВИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА

3.1 Материалы и оборудование, необходимые для проведения ПЦР-анализа, согласно ТУ и/или инструкции к испытываемому набору реагентов.

3.2 Реагенты из испытываемого набора реагентов.

3.3 Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.

4 ПОДГОТОВКА К ПРИМЕНЕНИЮ

Перед началом работы достать из холодильника пробирку с СОП и дать нагреться до комнатной температуры. СОП должен представлять собой прозрачную жидкость, не содержащую каких-либо включений или примесей. Оценить визуально.

5 ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

5.1 Содержимое пробирки с СОП перемешать и осадить капли на вортексе. Открыть пробирку и, используя наконечник с аэрозольным барьером, отобрать необходимый объем (см. следующий пункт), пробирку закрыть.

5.2 Приготовить разведения, указанные в ТУ / методике испытаний набора реагентов с использованием ДНК-буфера с polyA, приложенного к СОП.

Разведения готовить по следующей схеме:

- 1) Исходный препарат, имеющий концентрацию $N \times 10^m$, разводится N-кратно до ближайшего разведения 10^m с коэффициентом 1 (1×10^m).

Разведение проводят согласно расчету, с использованием следующих формул:

$$N \times 10^m / 1 \times 10^m = N \quad (1)$$

$$C/N=A \quad (2)$$

$$C-A=B \quad (3), \text{ где}$$

$N \times 10^m$ – исходная концентрация СОП № 286 ПКО РНК SARS-Cov-2-гес,

1×10^m – ближайшее к исходной концентрации разведение с коэффициентом 1
ГЭ (копий) / мл.

N – во сколько раз необходимо развести исходный препарат, для того чтобы получить ближайшее к исходной концентрации разведение с коэффициентом 1 (при необходимости полученное число округлить до целого),

A – объем исходного СОП, который необходимо взять для приготовления **C** мкл раствора, содержащего СОП в концентрации 1×10^m , ближайшего к исходной концентрации разведения с коэффициентом 1 (мкл),

B – объем ДНК-буфера с polyA, который необходимо взять для приготовления **C** мкл раствора, содержащего СОП в концентрации 1×10^m , ближайшего к исходной концентрации разведения с коэффициентом 1 (мкл);

C – объем раствора, содержащий СОП в концентрации 1×10^m .

- 2) Полученный препарат СОП с концентрацией 1×10^m ГЭ (копий) / мл развести последовательно десятикратно до получения первого разведения СОП с концентрацией, указанной в ТУ / методике испытаний набора реагентов;

- 3) Из полученного первого разведения СОП с коэффициентом 1, приготовить последующие разведения, указанные в ТУ / методике испытаний, путем последовательных двукратных, пятикратных и/или десятикратных разведений.

Например, СОП № 286 ПКО РНК SARS-Cov-2-гес, имеет концентрацию $5,0 \times 10^6$ ГЭ (копий) / мл необходимо подготовить разведения с концентрацией 5×10^5 , 5×10^3 , 5×10^2 копий/мл:

- промаркировать пробирки вместимостью 1,5 мл « 5×10^5 », « 5×10^4 », « 5×10^3 » и « 5×10^2 »;
- в пробирки « 5×10^5 », « 5×10^4 », « 5×10^3 » и « 5×10^2 » внести по 180 мкл ДНК-буфера с poly(A);
- в пробирку, маркированную « 5×10^5 », внести автоматическим дозатором, используя наконечник с аэрозольным барьером, 20 мкл СОП № 286 ПКО РНК SARS-Cov-2-гес, перемешать и осадить капли на вортексе;

- в пробирку, маркированную «5х10⁴», внести автоматическим дозатором, используя наконечник с аэрозольным барьером, 20 мкл из пробирки, маркированной «5х10⁵», тщательно перемешать и осадить капли на вортексе;
 - в пробирку, маркированную «5х10³», внести автоматическим дозатором, используя наконечник с аэрозольным барьером, 20 мкл из пробирки, маркированной «5х10⁴», тщательно перемешать и осадить капли на вортексе;
 - в пробирку, маркированную «5х10²», внести автоматическим дозатором, используя наконечник с аэрозольным барьером, 20 мкл из пробирки, маркированной «5х10³», тщательно перемешать и осадить капли на вортексе;
- Приготовленные разведения СОП хранению не подлежат и готовятся заново.

5.3 Далее провести анализ экстракция разведений СОП, в соответствии с ТУ / методикой испытаний набора реагентов.

6 ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ

Реагент	Объем, мл	Количество
<u>СОП</u> № 286 ПКО РНК SARS-Cov-2-rec	0,1	1 пробирка
ДНК-буфер с polyA	1,5	1 пробирка

7 СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

В соответствии со свидетельством на СОП. Срок годности и условия хранения вскрытого СОП соответствует сроку годности и условиям хранения невскрытого стандартного образца предприятия.

8 АДРЕСА ДЛЯ СПРАВOK И РЕКЛАМАЦИЙ

Рекламации направлять в адрес производителя: 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, тел. (495) 974-96-42.

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 4
ссылка лист 2

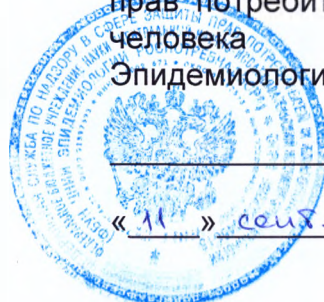
Руководитель подразделения развития и качества продук-
ции ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 60/20 от 17.04.2020 г.)



«01» 10 2020 г. Е.А. Козлова

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального бюджетного
учреждения науки «Центральный
научно-исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия
человека (ФБУН ЦНИИ
Эпидемиологии Роспотребнадзора)



В.Г. Акимкин

« 11 » сентября 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

стандартного образца предприятия № 136 «Положительный
контрольный образец, содержащий РНК MERS-CoV»
(СОП № 136 ПКО MERS-CoV-rec)



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

1 ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ

1.1 Инструкция устанавливает порядок и условия применения стандартного образца предприятия № 136 «Положительный контрольный образец, содержащий РНК MERS-CoV» (СОП № 136 ПКО MERS-CoV-rec), предназначенного для проведения испытаний методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией набора реагентов «АмплиСенс® Cov-Bat-FL», комплекта «РЕБЕРТА-L».

1.2. Проверку упаковки, маркировки и целостности СОП № 136 ПКО MERS-CoV-rec проводят путем внешнего осмотра.

2 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ. УДАЛЕНИЕ ОТХОДОВ

При работе с СОП и при постановке ПЦР следует соблюдать положения 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 всегда следует выполнять следующие требования:

- Использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы.
- 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.
- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

3 МАТЕРИАЛЫ, ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И УСЛОВИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА

3.1 Материалы и оборудование, необходимые для проведения ПЦР-анализа, согласно ТУ и/или инструкции к испытываемому набору реагентов.

3.2 Реагенты из испытываемого набора реагентов.

3.3 Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.

4 ПОДГОТОВКА К ПРИМЕНЕНИЮ

Перед началом работы достать из холодильника пробирку с СОП и дать нагреться до комнатной температуры. СОП должен представлять собой прозрачную жидкость, не содержащую каких-либо включений или примесей. Оценить визуально.

5 ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

5.1 Содержимое пробирки с СОП перемешать и осадить капли на вортексе. Открыть пробирку и, используя наконечник с аэрозольным барьером, отобрать необходимый объем (см. следующий пункт), пробирку закрыть.

5.2 Приготовить разведения, указанные в ТУ / методике испытаний набора реагентов с использованием ДНК-буфера с *polyA*, приложенного к СОП.

Разведения готовить по следующей схеме:

- 1) исходный препарат, имеющий концентрацию $N \times 10^m$, разводится N-кратно до ближайшего разведения 10^m с коэффициентом 1 (1×10^m).

Разведение провести согласно расчету, с использованием следующих формул:

$$N \times 10^m / 1 \times 10^m = N \quad (1)$$

$$C/N=A \quad (2)$$

$$C-A=B \quad (3), \text{ где}$$

$N \times 10^m$ – исходная концентрация СОП № 136 ПКО MERS-CoV–rec,

1×10^m – ближайшее к исходной концентрации разведение с коэффициентом 1 ГЭ/мл.

N – во сколько раз необходимо развести исходный препарат, для того чтобы получить ближайшее к исходной концентрации разведение с коэффициентом 1 (при необходимости полученное число округлить до целого),

A – объем исходного СОП, который необходимо взять для приготовления **C** мкл раствора, содержащего СОП в концентрации 1×10^m , ближайшего к исходной концентрации разведения с коэффициентом 1 (мкл),

B – объем ДНК-буфера с *polyA*, который необходимо взять для приготовления **C** мкл раствора, содержащего СОП в концентрации 1×10^m , ближайшего к исходной концентрации разведения с коэффициентом 1 (мкл);

C – объем раствора, содержащий СОП в концентрации 1×10^m .

- 2) Полученный препарат СОП с концентрацией 1×10^m ГЭ/мл развести последовательно десятикратно до получения первого разведения СОП с концентрацией, указанной в ТУ / методике испытаний набора реагентов;
- 3) Из полученного первого разведения СОП с коэффициентом 1, приготовить последующие разведения, указанные в ТУ / методике испытаний, путем последовательных двукратных, пятикратных и/или десятикратных разведений.

Например, СОП № 136 ПКО MERS-CoV–rec имеет концентрацию 5×10^5 ГЭ/мл, необходимо подготовить разведения с концентрацией 2×10^4 , 2×10^3 ГЭ/мл:

- промаркировать пробирки вместимостью 1,5 мл « 2×10^4 » и « 2×10^3 »;

- рассчитать объем ДНК-буфера с *polyA*, который необходимо внести в пробирку, для получения концентрации препарата, равной 2×10^4 ГЭ/мл:

$$5 \times 10^5 \text{ ГЭ/мл} / 2 \times 10^4 \text{ ГЭ/мл} = 25 \quad (1);$$

$$250 / 25 = 10 \text{ (мкл)} \quad (2);$$

$$250 \text{ мкл} - 10 \text{ мкл} = 240 \text{ (мкл)} \quad (3);$$

- в пробирку, маркированную « 2×10^4 », внести автоматическим дозатором, используя отдельный наконечник с аэрозольным барьером, 240 мкл ДНК-буфера с *polyA* и 10 мкл исходного СОП, тщательно перемешать и осадить капли с крышки пробирки на вортексе.

- в пробирку, маркированную «2x10³» последовательно внести, используя наконечники с аэрозольным барьером, 90 мкл ДНК-буфера с polyA и 10 мкл СОП с концентрацией 2x10⁴ ГЭ/мл, тщательно перемешать и осадить капли с крышки пробирки на вортексе.

Приготовленные разведения СОП хранению не подлежат и готовятся заново.

5.3 Далее провести анализ разведений СОП, в соответствии с ТУ / методикой испытаний набора реагентов.

6 ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ

Реагент	Объем, мл	Количество
<u>СОП</u> № 136 ПКО MERS-CoV-rec	0,1	1 пробирка
ДНК-буфер с polyA	1,5	1 пробирка

7 СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

В соответствии со свидетельством на СОП. Срок годности и условия хранения вскрытого СОП соответствует сроку годности и условиям хранения невскрытого стандартного образца предприятия.

8 АДРЕСА ДЛЯ СПРАВOK И РЕКЛАМАЦИЙ

Рекламации направлять в адрес производителя: 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, тел. (495) 974-96-42.

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 4
2007 лист 2

Руководитель подразделения развития и качества продукции
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 60/20 от 17.04.2020 г.)



10 20 20 г.

Е.А. Козлова

М.П.

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального бюджетного
учреждения науки «Центральный
научно-исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты
прав потребителей и благополучия
человека (ФБУН ЦНИИ
Эпидемиологии Роспотребнадзора)

В.Г. Акимкин



« 11 » сентября 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ **стандартного образца предприятия № 172 «Положительный** **контрольный образец, содержащий РНК SARS-CoV»** **(СОП № 172 ПКО SARS-CoV-гес)**



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

1 ОБЩИЕ УКАЗАНИЯ

1.1 Инструкция устанавливает порядок и условия применения стандартного образца предприятия № 172 «Положительный контрольный образец, содержащий РНК SARS-CoV» (СОП № 172 ПКО SARS-CoV-rec), предназначенного для проведения испытаний методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией набора реагентов «АмплиСенс® Cov-Bat-FL», комплекта «РЕБЕРТА-L».

1.2. Проверку упаковки, маркировки и целостности СОП № 172 ПКО SARS-CoV-rec проводят путем внешнего осмотра.

2 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ. УДАЛЕНИЕ ОТХОДОВ

При работе с СОП и при постановке ПЦР следует соблюдать положения 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 всегда следует выполнять следующие требования:

- Использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы.
- 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.
- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

3 МАТЕРИАЛЫ, ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И УСЛОВИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПЦР-АНАЛИЗА

3.1 Материалы и оборудование, необходимые для проведения ПЦР-анализа, согласно ТУ и/или инструкции к испытуемому набору реагентов.

3.2 Реагенты из испытываемого набора реагентов.

3.3 Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.

4 ПОДГОТОВКА К ПРИМЕНЕНИЮ

Перед началом работы достать из холодильника пробирку с СОП и дать нагреться до комнатной температуры. СОП должен представлять собой прозрачную жидкость, не содержащую каких-либо включений или примесей. Оценить визуально.

5 ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ

5.1 Содержимое пробирки с СОП перемешать и осадить капли на вихрексе. Открыть пробирку и, используя наконечник с аэрозольным барьером, отобрать необходимый объем (см. следующий пункт), пробирку закрыть.

5.2 Приготовить разведения, указанные в ТУ / методике испытаний набора реагентов с использованием ДНК-буфера с polyA, приложенного к СОП.

Разведения готовить по следующей схеме:

- 1) исходный препарат, имеющий концентрацию $N \times 10^m$, разводится N-кратно до ближайшего разведения 1×10^m с коэффициентом 1 (1×10^m).

Разведение проводят согласно расчету, с использованием следующих формул:

$$N \times 10^m / 1 \times 10^m = N \quad (1)$$

$$C/N = A \quad (2)$$

$$C - A = B \quad (3), \text{ где}$$

$N \times 10^m$ – исходная концентрация СОП № 172 ПКО SARS-CoV-гес,

1×10^m – ближайшее к исходной концентрации разведение с коэффициентом 1 ГЭ/мл.

N – во сколько раз необходимо развести исходный препарат, для того чтобы получить ближайшее к исходной концентрации разведение с коэффициентом 1 (при необходимости полученное число округлить до целого),

A – объем исходного СОП, который необходимо взять для приготовления C мкл раствора, содержащего СОП в концентрации 1×10^m , ближайшего к исходной концентрации разведения с коэффициентом 1 (мкл),

B – объем ДНК-буфера с polyA, который необходимо взять для приготовления C мкл раствора, содержащего СОП в концентрации 1×10^m , ближайшего к исходной концентрации разведения с коэффициентом 1 (мкл);

C – объем раствора, содержащий СОП в концентрации 1×10^m .

- 2) Полученный препарат СОП с концентрацией 1×10^m ГЭ/мл развести последовательно десятикратно до получения первого разведения СОП с концентрацией, указанной в ТУ / методике испытаний набора реагентов;
- 3) Из полученного первого разведения СОП с коэффициентом 1, приготовить последующие разведения, указанные в ТУ / методике испытаний, путем последовательных двукратных, пятикратных и/или десятикратных разведений.

Например, СОП № 172 ПКО SARS-CoV-гес имеет концентрацию 5×10^5 ГЭ/мл, согласно ТУ необходимо подготовить разведения с концентрацией 2×10^4 , 2×10^3 ГЭ/мл:

- промаркировать пробирки вместимостью 1,5 мл « 2×10^4 » и « 2×10^3 »;

- рассчитать объем ДНК-буфера с polyA, который необходимо внести в пробирку, для получения концентрации препарата, равной 2×10^4 ГЭ/мл:

$$5 \times 10^5 \text{ ГЭ/мл} / 2 \times 10^4 \text{ ГЭ/мл} = 25 \quad (1);$$

$$250 / 25 = 10 \text{ (мкл)} \quad (2);$$

$$250 \text{ мкл} - 10 \text{ мкл} = 240 \text{ (мкл)} \quad (3);$$

- в пробирку, маркированную « 2×10^4 », внести автоматическим дозатором, используя отдельный наконечник с аэрозольным барьером, 240 мкл ДНК-буфера

с polyA и 10 мкл исходного СОП, тщательно перемешать и осадить капли с крышки пробирки на вортексе.

- В пробирку, маркированную « 2×10^3 » последовательно внести, используя наконечники с аэрозольным барьером, 90 мкл ДНК-буфера с polyA и 10 мкл СОП с концентрацией 2×10^4 ГЭ/мл, тщательно перемешать и осадить капли с крышки пробирки на вортексе.

Приготовленные разведения СОП хранению не подлежат и готовятся заново.

5.3 Далее провести анализ разведений СОП, в соответствии с ТУ / методикой испытаний набора реагентов.

6 ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ

Реагент	Объем, мл	Количество
<u>СОП</u> № 172 ПК0 SARS-CoV-rec	0,1	1 пробирка
ДНК-буфера с polyA	1,5	1 пробирка

7 СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

В соответствии со свидетельством на СОП. Срок годности и условия хранения вскрытого СОП соответствует сроку годности и условиям хранения невскрытого стандартного образца предприятия.

8 АДРЕСА ДЛЯ СПРАВОК И РЕКЛАМАЦИЙ

Рекламации направлять в адрес производителя: 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, тел. (495) 974-96-42.

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 4

(Доверенность № 60/20 от 17.04.2020 г.)

« α » 10 2010 г.

Е.А. Козлова

М.П.





Краткое руководство

комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК «РЕБЕРТА-L»



ВЕРНО

Руководитель подразделения развития и качества
продукции ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора (Доверенность № 60/20
от 17.04.2020 г.)

Е.А. Козлова

Форма 1 **REF** K3-4-50; **REF** K13-0051-50
Форма 2 **REF** K3-4-100; **REF** K13-0052-100
Форма 3 **REF** K13-0053-100
Форма 4 **REF** K13-0054-200



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

IVD

VER 06.08.20

ВНИМАНИЕ! Краткое руководство предназначено для удобства работы с комплектом реагентов в лаборатории и может быть использовано только после детального ознакомления с инструкцией по применению данного комплекта реагентов.

ПРОВЕДЕНИЕ РЕАКЦИИ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ

Комплект реагентов «РЕБЕРТА-L» вариант 50 или вариант 100

Действие	Описание	
Приготовить реакционную смесь на 12 реакций:		
Внести	5 мкл	RT-G-mix-1 в пробирку с RT-mix; перемешать на вортексе, осадить капли
	6 мкл	ревертаза (MMIv) в ту же пробирку; пипетировать 5 раз; перемешать на вортексе, осадить капли
В пробирки для исследуемых и контрольных образцов		
Внести	10 мкл	готовая реакционная смесь
	10 мкл	РНК-проба
Инкубировать	37 °С, 30 мин	
Развести полученную кДНК в 2 раза:		
Внести	20 мкл	ДНК-буфер в каждую пробирку; пипетировать 10 раз

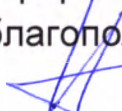
Комплект реагентов «РЕБЕРТА-L» вариант 100M или вариант 200M

Действие	Описание	
Приготовить реакционную смесь на 24 реакции:		
Внести	10 мкл	RT-G-mix-1 в пробирку с RT-mix; перемешать на вортексе, осадить капли
	12 мкл	ревертаза (MMIv) в ту же пробирку; пипетировать 5 раз; перемешать на вортексе, осадить капли
В пробирки для исследуемых и контрольных образцов		
Внести	10 мкл	готовая реакционная смесь
	10 мкл	РНК-проба
Инкубировать	37 °C, 30 мин	
Развести полученную кДНК в 2 раза:		
Внести	20 мкл	ДНК-буфер в каждую пробирку; пипетировать 10 раз

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального бюджетного
учреждения науки «Центральный
научно-исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека




В.Г. Акимкин

« 11 » мая 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

комплекта реагентов для получения кДНК на матрице РНК

«РЕВЕРТА-L»

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ПРИНЦИП МЕТОДА.....	3
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ.	3
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	4
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	5
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	5
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА. ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.....	6
СОСТАВ	7
ПРОВЕДЕНИЕ РЕАКЦИИ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ.....	7
СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	10
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	10
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	11

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
кДНК	– комплементарная ДНК, получаемая в реакции обратной транскрипции на матрице РНК
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	– Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» предназначен для получения кДНК на матрице РНК для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Получение кДНК на матрице РНК, экстрагированной из исследуемого биоматериала, проводится с помощью фермента обратной транскриптазы (ревертазы) и коротких олигонуклеотидов (гексамеров) случайной последовательности в качестве праймеров для полимеризации (рэндом-праймеры). В результате реакции обратной транскрипции синтезируется кДНК со всех РНК, присутствующих в исследуемом образце.

Обратная транскрипция РНК является преаналитическим этапом в клинической лабораторной диагностике.

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ.

Комплект реагентов выпускается в 4 формах комплектации:

Форма 1 включает комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 50.

Форма 2 включает комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 100.

Форма 3 включает комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 100М.

Форма 4 включает комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 200М.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», 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» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

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

Комплект реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять комплект реагентов строго по назначению.

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75%.
- Допускать к работе с комплектом реагентов только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке.
- Не использовать комплект реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать комплект реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не использовать комплект 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, при необходимости обратиться за медицинской помощью.

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

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

Сведения о безопасности комплекта реагентов доступны по запросу.

СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку¹, биологический материал, а также материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями 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».

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

1. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А (например, «БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный).

¹ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °C (например, SIA Biosan («СИА Биосан»), Латвия, или аналогичный) или амплификатор (например, MaxyGene Gradient (Axygen, Scientific Inc. («Эксиджен Саентифик, Инк»), США, или аналогичный).
3. Вортекс (например, SIA Biosan («СИА Биосан»), Латвия, или аналогичный).
4. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
5. Одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 0,2 (0,5) мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
6. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
7. Штативы для пробирок объемом 0,2 (0,5) мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
8. Холодильник с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °C.
9. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки.
10. Емкость для сброса наконечников.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА. ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Материалом для проведения реакции обратной транскрипции служит раствор РНК, полученный ранее на этапе экстракции из исследуемого материала.

Информацию о порядке взятия, условиях транспортирования и хранения исследуемого материала, необходимости и порядке его подготовки к экстракции РНК, а также информацию об интерферирующих веществах и ограничениях, связанных с пробой, смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

СОСТАВ

«РЕВЕРТА-L» вариант 50 или вариант 100 – комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК – включает:

Реагент	Описание	Вариант 50		Вариант 100	
		Объем, мл	Кол-во	Объем, мл	Кол-во
RT-G-mix-1	Прозрачная бесцветная жидкость	0,01	5 пробирок	0,01	10 пробирок
RT-mix	Прозрачная бесцветная жидкость	0,125	5 пробирок	0,125	10 пробирок
Ревертаза (MMiv)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,03	1 пробирка	0,06	1 пробирка
ДНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка	1,2	2 пробирки

Комплект реагентов вариант 50 рассчитан на проведение 60 реакций обратной транскрипции, включая контроли.

Комплект реагентов вариант 100 рассчитан на проведение 120 реакций обратной транскрипции, включая контроли.

«РЕВЕРТА-L» вариант 100М или вариант 200М – комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК – включает:

Реагент	Описание	Вариант 100М		Вариант 200М	
		Объем, мл	Кол-во	Объем, мл	Кол-во
RT-G-mix-1	Прозрачная бесцветная жидкость	0,05	1 пробирка	0,05	2 пробирки
RT-mix	Прозрачная бесцветная жидкость	0,25	5 пробирок	0,25	10 пробирок
Ревертаза (MMiv)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,06	1 пробирка	0,06	2 пробирки
ДНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	2 пробирки	1,2	4 пробирки

Комплект реагентов вариант 100М рассчитан на проведение 120 реакций обратной транскрипции, включая контроли.

Комплект реагентов вариант 200М рассчитан на проведение 240 реакций обратной транскрипции, включая контроли.

ПРОВЕДЕНИЕ РЕАКЦИИ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ

(проводится в ЗОНЕ 2 - помещении для проведения ПЦР-амплификации).

Общий объем реакции – 20 мкл, объем РНК-пробы – 10 мкл.

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

free».

ВНИМАНИЕ! Объем добавляемых реагентов и порядок проведения реакции могут быть различными. Необходимо руководствоваться описанием проведения реакции обратной транскрипции, указанным в инструкции к набору реагентов для выявления РНК анализируемого возбудителя.

Порядок работы:

1. Отобрать необходимое количество пробирок объемом 0,2 (0,5) мл.
2. При использовании комплекта реагентов вариант 50 или вариант 100:
 - Приготовить реакционную смесь на 12 реакций. Для этого в пробирку с RT-mix внести 5 мкл RT-G-mix-1, тщательно перемешать на вортексе, осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием.
 - К полученному раствору добавить 6 мкл ревертазы (MMiv), пипетировать 5 раз, перемешать на вортексе. Осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием.
3. При использовании комплекта реагентов вариант 100M или вариант 200M:
 - Приготовить реакционную смесь на 24 реакции. Для этого в пробирку с RT-mix внести 10 мкл RT-G-mix-1, тщательно перемешать на вортексе, осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием.
 - К полученному раствору добавить 12 мкл ревертазы (MMiv), пипетировать 5 раз, перемешать на вортексе. Осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием.
4. Внести в пробирки по 10 мкл готовой реакционной смеси.
5. Используя наконечники с аэрозольным барьером, добавить по 10 мкл РНК-пробы в пробирки с реакционной смесью. Осторожно перемешать пипетированием.
6. Поставить пробирки в амплификатор (термостат) с температурой 37 °С на 30 мин.
7. Полученную в реакции обратной транскрипции кДНК для последующей постановки ПЦР развести в 2 раза ДНК-

буфером (к 20 мкл кДНК отдельным наконечником с аэрозольным барьером добавить 20 мкл ДНК-буфера, аккуратно перемешать пипетированием 10 раз).

Готовый препарат кДНК можно хранить при температуре не выше минус 16 °С в течение 1 нед или при температуре не выше минус 68 °С в течение года.

СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 12 мес. Комплект реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Транспортирование. Комплект реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут.

Хранение. Комплект реагентов хранить при температуре от минус 24 до минус 16 °С.

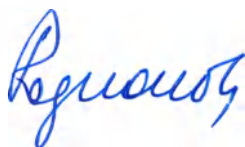
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

Рекламации на качество комплекта реагентов направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: obtk@pcr.ru².

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению комплекта реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении комплекта 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.

Заведующий НПЛ ОМДиЭ
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора



Е.Н. Родионова

² Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению



Код партии



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению



Температурный диапазон



Дата изготовления



Изготовитель

Пронито, пронумеровано и скреплено печатью: 11
сдана лист 02

Руководитель подразделения развития и качества продук-
ции ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 93/21 от 17.04.2021 г.)

« 20 » 05 2021 г. Е.А. Козлова



М.П.