

УТВЕРЖДАЮ

Директор

ООО «Медико-биологический Союз»

М.В. Лосев

« 25 » _____ 2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro*

Набор реагентов для выделения и качественного выявления РНК SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК» по ТУ 21.20.23-068-26329720-2021, серия (партия): 210006

1. НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для выделения и качественного выявления РНК SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК» по ТУ 21.20.23-068-26329720-2021 (далее по тексту – Набор реагентов «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК», набор реагентов), предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в образцах мазков из носоглотки и/или ротоглотки, раствора бронхоальвеолярного лаважа (далее по тексту – анализируемые образцы), взятых у лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания, схожего с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, в особенности прибывающих из эпидемиологически неблагополучных регионов сразу после первичного осмотра, а также контактных лиц, методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени (далее по тексту – ОТ-ПЦР).

Функциональное назначение: прямой метод этиологической лабораторной диагностики (*in vitro*) - выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2, в том числе вариантов коронавируса:

20I/501Y.V1 или VOC 202012/01 – выявленных во второй половине декабря 2020 года в Великобритании,

20H/501Y.V2 – выявленных в Южной Африке.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

Набор реагентов используется для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 у лиц с симптомами ОРВИ и контактировавшими с заболевшим COVID-19, не зависимо от их возраста, лицам всех возрастов без признаков ОРВИ (в очагах инфекции/ в условиях распространения инфекции) с целью раннего выявления коронавируса для предотвращения дальнейшего распространения инфекции.

Сокращенное наименование медицинского изделия для диагностики *in vitro*:

«МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК»

Предназначенный пользователь

Только для профессионального использования.

Сотрудники клинико-диагностических лабораторий медицинских учреждений.

ВНИМАНИЕ! К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики, при проведении первичных скрининговых исследований без выделения возбудителя на базе лабораторий, имеющих санитарно-

эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных болезней человека III - IV группы патогенности, при этом к работе допускаются специалисты, давшие письменное согласие и прошедшие подготовку/инструктаж по вопросам обеспечения требований биологической безопасности, проведенный сотрудниками организаций и учреждений Роспотребнадзора, осуществляющих деятельность с возбудителями инфекционных болезней человека II группы патогенности (работа по проведению таких инструктажей организуется на территориальном уровне путем сбора обращений, формирования учебных групп при согласовании территориальных органов Роспотребнадзора)».

Показания к применению

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

Противопоказания к применению

Противопоказаний в рамках установленного производителем назначения не имеет, за исключением случаев, когда забор материала не может быть осуществлен по медицинским показаниям.

2. ПРИНЦИП МЕТОДА

Для определения наличия или отсутствия инфекционных агентов в биологических жидкостях человека проводят амплификацию генетического материала возбудителя инфекции. В данном наборе реагентов реализован «золотой стандарт» *in vitro* диагностики амплификации нуклеиновых кислот инфекционных агентов – полимеразная цепная реакция с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени.

В основе данной методики лежит реакция синтеза нуклеиновых кислот с участием специфических олигонуклеотидных последовательностей, содержащих флуоресцентную метку. При амплификации фрагмента генома инфекционного агента происходит испускание флуоресценции, которая детектируется в реальном времени позволяет судить о накоплении специфических продуктов реакции.

Отличительной особенностью описанной методики является высокая диагностическая чувствительность, что обеспечивает раннюю диагностику инфекционных агентов.

Выявление наличия или отсутствия РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологических жидкостях человека включает в себя две стадии: экстракцию РНК коронавируса SARS-CoV-2 из анализируемых образцов и обратную транскрипцию, совмещенную с ПЦР в реальном времени, с использованием специфических олигонуклеотидных последовательностей, в том числе с флуоресцентной меткой.

В ходе амплификации с использованием специфических олигонуклеотидных последовательностей определяются следующие участки генома коронавируса SARS-CoV-2 – фрагмент гена, кодирующего РНК-зависимую РНК-полимеразу вируса и фрагмент гена N, кодирующего белок нуклеокапсида вируса.

Для контроля анализа в наборе реагентов предусмотрены контрольные образцы: «К+» и «К-». Амплификация участка одного из генов домашнего хозяйства человека используется в качестве эндогенного внутреннего контроля (ВКО), отражающего качество взятия, транспортировки, хранения и обработки клинического материала.

3. КОМПЛЕКТНОСТЬ

1. Набор реагентов «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК»:

- Комплект реагентов для выделения НК – 1 шт.;
- Комплект реагентов для проведения ОТ-ПЦР – 1 шт.;
- Планшет 96-луночный для проведения ПЦР – 1 шт.;
- Пленка для запаивания планшета 96-луночного – 1 шт.;
- Инструкция по применению – 1 шт.

2. Паспорт¹ – 1 шт.

4. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

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

Состав набора реагентов представлен в таблице 1.

Таблица 1

Состав	Объем	Количество	Описание
Комплект реагентов для выделения НК:			
ЛБ	28 мл	1 флакон	Лизирующий буфер – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость с магнитными частицами. Допускается расслоение на надосадочную жидкость и осадок магнитных частиц. Осадок магнитных частиц может быть черного или коричневого цвета. Допускается выпадение кристаллов и хлопьев белого цвета
РП	31 мл	1 флакон	Раствор для преципитации – прозрачная бесцветная жидкость
ПР-1	30 мл	2 флакона	Буферный раствор для отмывки магнитных частиц 1 – прозрачная бесцветная жидкость
ПР-2	22 мл	1 флакон	Буферный раствор для отмывки магнитных частиц 2 – прозрачная бесцветная жидкость
ЭР	7 мл	1 флакон	Буферный раствор для элюции. Консервант: 0,1 % проклин 300
Комплект реагентов для проведения ОТ-ПЦР:			
К+	100 мкл	1 пробирка	Положительный контроль, прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300
К-	100 мкл	1 пробирка	Отрицательный контроль, прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300
РС	1,7 мл	1 пробирка	Реакционная смесь – прозрачная жидкость фиолетового цвета, Консерванты: 0,1 % проклин 300
Фермент RT	70 мкл	1 пробирка	MMLV -обратная транскриптаза – прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300

¹ Паспорт вкладывается один на транспортную упаковку.

Фермент Р	70 мкл	1 пробирка	Hot-start <i>Taq</i> -полимераза – прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300
Планшет 96-луночный для проведения ПЦР	-	1 штука	Белый непрозрачный или прозрачный планшет с 96 лунками из полипропилена для проведения ПЦР
Пленка для запаивания планшета 96-луночного	-	1 штука	Прозрачная клейкая пленка
Инструкция по применению		1 штука	-

ВНИМАНИЕ! Набор реагентов предназначен для ручной постановки анализа.

Число анализируемых образцов биологического материала

Набор реагентов предназначен для выполнения 96 определений, включая контрольные образцы.

5. ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПОНЕНТОВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Контрольные образцы «К+» и «К-» используются для контроля ОТ-ПЦР при выявлении РНК коронавируса SARS-CoV-2 в анализируемых образцах.

«К-» (Отрицательный контроль), представляет собой раствор, НЕ содержащий плазмидную конструкцию со вставкой фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2.

«К+» (Положительный контроль), представляет собой раствор, содержащий плазмидную конструкцию со вставкой фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2 и плазмидную конструкцию со вставкой фрагмента ДНК одного из генов «домашнего хозяйства».

«РС» (Реакционная смесь), представляет собой смесь специфических олигонуклеотидных последовательностей в необходимом для проведения реакции буферном растворе.

«Фермент RT», представляет собой раствор фермента MMLV -обратной транскриптазы в необходимом для проведения реакции буферном растворе.

«Фермент Р», представляет собой раствор фермента Hot-start *Taq*-полимеразы в необходимом для проведения реакции буферном растворе.

«ЛБ», представляет собой буферный раствор с магнитными частицами для лизирования вируса и эпителиальных клеток в анализируемом образце.

«РП» представляет собой раствор для осаждения нуклеиновых кислот на магнитные частицы.

«ПР-1» представляет собой буферный раствор для промывки магнитных частиц от остатков «ЛБ» и «РП».

«ПР-2» представляет собой раствор для промывки магнитных частиц от остатков «ПР-1».

«ЭР» представляет собой буферный раствор для элюции нуклеиновых кислот с поверхности магнитных частиц.

6. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

6.1. Предел обнаружения

Предел обнаружения набора реагентов составляет 1000 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца.

6.2. Специфичность

Специфичность набора реагентов проверялась *in silico* со следующими инфекционными агентами:

Коронавирус 229E	Риновирус
Коронавирус OC43	Паразховирус
Коронавирус HKU1	<i>Candida albicans</i>
Коронавирус NL63	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
SARS-коронавирус	<i>Legionella pneumophila</i>
MERS-коронавирус	<i>Bacillus anthracis</i> (Anthrax)
Аденовирус	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Метапневмовирус человека	<i>Neisseria elongata</i> and <i>Neisseria meningitidis</i>
Парагрипп первого типа	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Парагрипп второго типа	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Парагрипп третьего типа	<i>Streptococcus salivarius</i>
Парагрипп четвертого типа	<i>Leptospira</i> sp.
Грипп типа А	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>
Грипп типа В	<i>Chlamydophila psittaci</i>
Грипп типа С	<i>Coxiella burnetii</i> (Q-Fever)
Энтеровирус	<i>Staphylococcus aureus</i>
Респираторный синцитиальный вирус типа А	<i>Haemophilus influenzae</i>
Респираторный синцитиальный вирус типа В	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	<i>Streptococcus pyogenes</i>

При проведении анализа были использованы ресурсы доступные в сети Интернет: BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), MUSCLE (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>).

Среди проанализированных инфекционных агентов гомология геномной последовательности SARS-CoV-2 выявлена только для SARS-коронавируса и составляет 82%. Указанная гомологичность недостаточна для получения учитываемого результата в представленной диагностической системе.

Для всех других проанализированных инфекционных агентов гомологии не обнаружено.

Проведенные анализы *in silico* указывают на то, что неспецифическая амплификация, которая могла бы привести к перекрестной реакции или повлиять на амплификацию целевых участков SARS-CoV-2, крайне маловероятна.

Специфичность набора реагентов проверялась *in vitro* на базе ФГБУ «НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» на охарактеризованных музейных штаммах с биологической активностью не менее 1,0 x 10⁵ УЕ·мл⁻¹: *Streptococcus pneumoniae* штаммы ATCC 49619 и № 101, *Haemophilus influenzae* type В штамм № 3689, *Legionella pneumophila* штамм ATCC 33152, *Metapneumovirus* штамм НМ-1, *Rhinovirus* штаммы JH2060 и штамм 6669 (тип 39), *Human respirovirus* 1 штамм С-39, Коронавирус штаммы «ОС-43» (256) и «Р/Ленинград/2/77», Коронавирус КРС штамм «КВ-90».

Полученные данные подтверждают отсутствие неспецифических реакций с РНК/ДНК *Streptococcus pneumoniae* штаммы ATCC 49619 и № 101, *Haemophilus influenzae* type В штамм № 3689, *Legionella pneumophila* штамм ATCC 33152, *Metapneumovirus* штамм НМ-1, *Rhinovirus* штамм JH2060 и штамм 6669 (тип 39), *Human respirovirus* 1 штамм С-39, Коронавирус штаммы «ОС-43» (256) и «Р/Ленинград/2/77», Коронавирус КРС штамм «КВ-90».

Специфичность набора реагентов проверялась *in vitro* на базе ООО «МБС-Технология» с помощью образцов клинического материала (объединенные мазки из носоглотки и ротоглотки), не содержащих РНК коронавируса SARS-CoV-2, но положительных на другие инфекции: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, вирус Парагриппа, вирус гриппа А, Аденовирус, вирус Гриппа В, Метапневмовирус, Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), Риновирус, *Legionella pneumophila*. подтвержденных с использованием зарегистрированных в установленном порядке на территории Российской Федерации наборов реагентов.

Полученные данные подтверждают отсутствие неспецифических реакций с РНК/ДНК *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, вирус Парагриппа, вирус гриппа А, Аденовирус, вирус Гриппа В, Метапневмовирус, Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), Риновирус, *Legionella pneumophila*, содержащихся в образцах из коллекции ООО «МБС-Технология».

Способность исследуемого набора реагентов выявлять РНК коронавируса SARS-CoV-2, в том числе вариантов коронавирусов:

20I/501Y.V1 или VOC 202012/01 – выявленных во второй половине декабря 2020 года в Великобритании,

20H/501Y.V2 – выявленных в Южной Африке,

была подтверждена в ходе испытаний биологических образцов, представлявших собой объединенные мазки из носоглотки и ротоглотки, не содержащие РНК SARS-CoV-2, контаминированные штаммами вируса 20I/501Y.V1 и 20H/501Y.V2 из коллекции ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора.

6.3. Потенциально интерферирующие вещества

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

Для изучения влияния потенциально интерферирующих веществ на полученные результаты, испытываемым набором реагентов были протестированы модельные образцы, содержащие и не содержащие эндогенные и экзогенный потенциально интерферирующие вещества. Модельные образцы представляли собой образцы Рабочей Панели №5, №6, №7 и №8, контаминированные эндогенными (муцин, гемоглобин) и экзогенным (водный раствор хлоргексидина биглюконата для местного и наружного применения) потенциально интерферирующими веществами и без добавления данных веществ. Оценивали полученные значения пороговых циклов контрольных и испытываемых образцов согласно паспорту на Рабочую панель. При соответствии/ не соответствии значений пороговых циклов контрольных и испытываемых образцов заданным в паспорте диапазонам делали вывод об отсутствии или наличии влияния потенциально интерферирующих веществ на результат ОТ-ПЦР. Результаты тестирования представлены в Таблице 2.

Таблица 2

Материал	Вид вещества	Потенциально интерферирующие вещества	Наличие интерференции
Мазки из носоглотки и/или ротоглотки, раствор бронхоальвеолярного лаважа	Эндогенные	Муцин (до 5% по объему)	Не обнаружено
		Гемоглобин (до 5 % по объему)	Не обнаружено
	Экзогенные	Водный раствор хлоргексидина биглюконата (0,5% в образце)	Не обнаружено

6.4. Воспроизводимость

Воспроизводимость результатов исследований, проводимых с использованием набора реагентов, была определена в разные дни, разными операторами, на различных приборах и сериях испытываемого набора реагентов путем тестирования положительных и отрицательных модельных образцов. Положительные образцы представляли собой образцы Рабочей Панели №5, №6, №7 и №8, в качестве отрицательных образцов были использованы образцы Рабочей Панели №13, №14, №15 и №16.

Полученные результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Условия исследования образцов		Тип образца						
		Мазок из носоглотки	Мазок из ротоглотки	Мазки из носоглотки и ротоглотки	БАЛ	Мазок из носоглотки	Мазок из ротоглотки	Мазки из носоглотки и ротоглотки
		Образец РП №5	Образец РП №6	Образец РП №7	Образец РП №8	Образец РП №13	Образец РП №14	Образец РП №15
В одной постановке	Кол-во образцов	8				8		
	Совпадение результатов, %	100				100		
Между сериями	Кол-во образцов	16				18		
	Совпадение результатов, %	100				100		
Между операторами	Кол-во образцов	16				16		
	Совпадение результатов, %	100				100		
Между приборами	Кол-во образцов	40				40		
	Совпадение результатов, %	100				100		
Между днями	Кол-во образцов	16				16		
	Совпадение результатов, %	8				8		

7. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Диагностическая чувствительность Набора реагентов при исследовании:

- мазков из носоглотки (в том числе вариантов коронавируса 20I/501Y.V1 и 20H/501Y.V2) составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 96,1% - 100%) при 75 положительных образцах;
- мазков из ротоглотки (в том числе вариантов коронавируса 20I/501Y.V1 и 20H/501Y.V2) составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 96,1% - 100%) при 75 положительных образцах;
- объединенных мазков из носо- и ротоглотки (в том числе вариантов коронавируса 20I/501Y.V1 и 20H/501Y.V2) составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 96,3% - 100%) при 80 положительных образцах;
- раствора бронхоальвеолярного лаважа (в том числе вариантов коронавируса 20I/501Y.V1 и 20H/501Y.V2) составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 96,1% - 100%) при 75 положительных образцах.

Диагностическая специфичность Набора реагентов при исследовании:

- мазков из носоглотки составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 88,7% - 100%) при 25 отрицательных образцах;
- мазков из ротоглотки составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 88,7% - 100%) при 25 отрицательных образцах;
- объединенных мазков из носо- и ротоглотки составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 95,6% - 100%) при 67 отрицательных образцах;

- раствора бронхоальвеолярного лаважа составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 88,7% - 100%) при 25 отрицательных образцах.

8. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

8.1. Использовать только для диагностики *in vitro*.

8.2. Потенциальный риск применения набора реагентов – класс 3 (Приказ Минздрава России от 6 июня 2012 г. № 4н «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий»).

8.3. 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".

8.4. 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.

8.5. 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».

8.6. 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».

8.7. Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в зоне выделения/ экстракции, продолжать в зонах амплификации и детекции.

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

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

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

8.11. Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для

автоматических или механических дозаторов с фильтром. Одноразовые пластиковые материалы (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

8.12. Допускать к работе с набором реагентов только специально обученный персонал.

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

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

8.15. Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

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

8.17. Компоненты набора реагентов «К+», «К-», «Фермент RT», «Фермент Р», «РС», «ПР-1» и «ЭР» содержат в качестве консерванта 0,1 % проклина 300.

8.18. Гуанидин гидрохлорид, входящий в состав «ЛБ», обладает раздражающим действием. Следует избегать разбрызгивания и попадания его на кожу и слизистые.

8.19. Спиртовые соединения, входящие в состав компонентов «РП», «ПР-1» и ацетон в составе «ПР-2», обладают раздражающим действием. Следует избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. Использовать только в хорошо вентилируемом помещении! Избегать разбрызгивания, вдыхания, проглатывания и попадания компонента на кожу, слизистые и в глаза! Беречь от источников воспламенения / нагревания / искр / открытого огня! При пожаре тушить огнетушителями на основе диоксида углерода, порошковым средством для тушения или водяной струей мелкого разбрызгивания. При борьбе с крупными пожарами применять водяную струю мелкого разбрызгивания или спиртоустойчивую пену. Полноструйная вода НЕ пригодна для тушения!

8.20. При проглатывании компонентов набора реагентов прополоскать полость рта, обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии. НЕ вызывать рвоту! При вдыхании компонентов набора реагентов выйти на свежий воздух, обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии. При попадании компонентов набора реагентов на кожу и/или одежду немедленно снять всю загрязненную одежду, промыть кожу проточной водой, обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии. При попадании компонентов набора реагентов в глаза осторожно промыть глаза проточной водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы (при наличии), если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться за медицинской помощью!

8.21. Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными. При попадании данных растворов на кожу и слизистые промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

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

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

8.24. Воздействие на функционирование внешних факторов в диапазоне их возможного

изменения при применении набора реагентов в медицинских учреждениях - не существенно, включая электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температуру воздуха.

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

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

ВНИМАНИЕ! Обеззараживание и/или обезвреживание и утилизацию всех анализируемых образцов, компонентов и отходов набора реагентов, несущих потенциальную биологическую опасность, производить в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению.

9. УКАЗАНИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ

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

9.2. Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться специалистами с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, давший письменное согласие и прошедший инструктаж, проведенный сотрудниками лабораторий Роспотребнадзора, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных заболеваний человека II группы патогенности, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности и получившими дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики (методам ПЦР в реальном времени).

9.3. Исследования с использованием набора реагентов проводятся в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

9.4. Условия эксплуатации набора реагентов:

- температура окружающей среды (15 – 25) °С;
- относительная влажность воздуха (не более 70) %;
- атмосферное давление (84,0 – 106,7) кПа / (630 – 800) мм. рт. ст.

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

9.6. Набор реагентов не имеет предыдущих модификаций, находящихся в обращении.

9.7. Набор реагентов не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

10. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

10.1. Для работы с набором реагентов необходимо нижеперечисленное оборудование:

- амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени планшетного или роторного типа (далее по тексту - амплификатор): «CFX96» ("Био-Рад Лабораториз, Инк", США, ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016 г.), «ДТпрайм» (ООО "НПО ДНК-Технология", Россия, ФСР 2011/10229 от 03.03.2011 г.); «ДТлайт» (ООО "НПО ДНК-Технология", Россия, ФСР 2011/10228 от

03.03.2011 г.); Applied Biosystems QuantStudio 5 ("Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд", Сингапур, РЗН 2019/8446 от 06.06.2019 г.), Rotor-Gene Q («КИАГЕН ГмбХ», Германия, ФСЗ 2010/07595 от 10.08.2010 г.);

- бокс абактериальной воздушной среды 2-го класса биологической защиты или ПЦР-бокс;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 25 °С до 98 °С;
- холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С, и холодильник с морозильной камерой, поддерживающей температуру до минус 20 °С;
- таймер/часы;
- одноканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 0,5 до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 %;
- многоканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 0,5 до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 %; (при наличии);
- центрифуга лабораторная типа Vortex (далее по тексту – вортекс);
- микроцентрифуга лабораторная для пробирок типа эппендорф (при наличии);
- микроцентрифуга лабораторная для ПЦР-планшета (при наличии).

10.2. Для работы с набором реагентов необходимы следующие материалы:

- одноразовые наконечники с аэрозольным барьером (фильтром) для полуавтоматических одноканальных дозаторов;
- одноразовые наконечники для полуавтоматических одноканальных дозаторов пипеточных;
- пробирки стерильные одноразовые полипропиленовые (типа эппендорф) вместимостью 1,5 – 2,0 мл;
- пробирки стерильные одноразовые полипропиленовые (типа эппендорф) вместимостью 0,2 мл (при необходимости);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные;
- нарукавники одноразовые;
- контейнер для сбора и обеззараживания наконечников;
- штатив для пробирок;
- магнитный штатив для пробирок типа эппендорф объемом 1,5-2,0 мл.
- крио штативы для микропробирок (при наличии);
- ледяная баня или источник льда;
- пробирки и пластик для амплификатора типа «Rotor Gene» (при необходимости).

11. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Материалом для исследования являются пробы биологического материала – мазки из носоглотки и/или ротоглотки, раствор бронхоальвеолярного лаважа, полученные от пациентов с клинической симптоматикой респираторного заболевания, схожего с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2.

Идентификацию и прослеживаемость проб пациента (мазки из носоглотки и /или ротоглотки, раствор бронхоальвеолярного лаважа) проводить в соответствии с системой менеджмента качества лаборатории.

Взятие, упаковку, хранение и транспортирование анализируемых образцов осуществлять согласно МР 3.1.0169-20 «Организация лабораторной диагностики COVID-19», МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при

работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» и «Временным методическим рекомендациям по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCoV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)».

Перед постановкой анализа анализируемые образцы, хранившиеся в морозильной камере, необходимо разморозить. Все образцы перед экстракцией РНК необходимо аккуратно перемешать.

Не допускается повторное замораживание/оттаивание образцов.

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

12. ПРИЧИНЫ СНИЖЕНИЯ ПРАВИЛЬНОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

12.1. Использование компонентов набора реагентов с истекшим сроком годности.

12.2. Использование компонентов из наборов реагентов разных серий или смешивание их в процессе приготовления растворов.

12.3. Использование компонентов из наборов реагентов других производителей.

12.4. Несоблюдение условий и сроков хранения невскрытых компонентов набора реагентов.

12.5. Несоблюдение условий и сроков хранения вскрытых компонентов набора реагентов.

12.6. Неправильное дозирование растворов, которое приводит как к росту, так и к снижению регистрируемой флуоресценции.

12.7. Изменение концентрации раствора за счет испарения жидкости из открытого флакона с компонентом.

12.8. Недостаточное перемешивание компонентов набора реагентов.

12.8. Использование для работы с компонентами, анализируемыми и контрольными образцами грязных наконечников.

12.9. Неправильная утилизация планшетов и/или пробирок после проведения реакции амплификации может приводить к контаминации лаборатории и, как следствие, получению ложноположительных результатов в дальнейших постановках.

12.10. Использование для дезинфекции посуды, оборудования, материалов и рабочих поверхностей неразрешенных и/или оказывающих влияние на результат амплификации дезсредств. Рекомендуется использовать, например, хлорамин и другие хлорсодержащие средства.

12.11. Рекомендуется использовать перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные и нарукавники одноразовые.

12.12. Проведение анализа в неблагоприятных условиях окружающей среды, например, при температуре воздуха, в лаборатории выше 25 °С и относительной влажности воздуха более 70 %.

13. ПОДГОТОВКА ОБОРУДОВАНИЯ

Для проведения анализа с помощью набора реагентов с использованием амплификатора, необходимо оборудование подготовить **заранее** в соответствии с руководством по эксплуатации.

14. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

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

14.1. Извлечь из коробки набора реагентов «ЛБ», «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР», проверить целостность упаковки и срок годности каждого компонента набора реагентов. При обнаружении

повреждения или при истечении срока годности компоненты набора реагентов следует обработать в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению. Перед применением все вышеперечисленные компоненты инкубировать при комнатной температуре (от 15 до 25 °С) в течение 15 минут, затем аккуратно перемешать содержимое флаконов (кроме «ЛБ»).

Хранение: неиспользованные и вскрытые компоненты хранить при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора реагентов.

14.2. Промаркировать количество пробирок типа эппендорф вместимостью 1,5-2,0 мл по количеству анализируемых образцов.

ВНИМАНИЕ! При наличии в «ЛБ» кристаллического осадка или хлопьев необходимо инкубировать флакон с «ЛБ» при 65 °С до полного растворения осадка. Необходимо периодически встряхивать «ЛБ» для перемешивания магнитных частиц во время разнесения его по пробиркам.

15. ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

15.1. Перемешать «ЛБ» вручную, вращая флакон между ладонями в течение 20 с, до равномерного распределения магнитных частиц в объеме раствора. Внести пипеточным дозатором **по 250 мкл «ЛБ»** в каждую пробирку.

15.2. Добавить **по 50 мкл анализируемого образца** в пробирки с «ЛБ» и аккуратно перемешать содержимое пробирки пипетированием 3-5 раз.

ВНИМАНИЕ! Необходимо использовать каждый раз новый одноразовый наконечник с аэрозольным барьером, для каждого анализируемого образца во избежание контаминации.

15.3. Инкубировать пробирки в твердотельном термостате при температуре 65 °С в течение 10 минут.

ВНИМАНИЕ! Для пп. 15.6 – 15.13 рекомендуется открывать крышку только той пробирки, с которой идет работа, и сразу закрывать её после проведения манипуляции. НЕ открывать сразу несколько пробирок, для исключения контаминации!

15.4. После инкубации добавить **по 300 мкл «РП»** в каждую пробирку, и аккуратно перемешать содержимое пробирки пипетированием 3-5 раз.

15.5. Инкубировать пробирки на столе в течение 10 минут.

НЕ СТАВИТЬ пробирки в магнитный штатив во время инкубации!

15.6. Поместить пробирки в магнитный штатив, выдержать 1-2 минуты, затем убрать надосадочную жидкость из пробирок с помощью вакуумного отсасывателя или пипеточного дозатора, не задевая осадок магнитных частиц.

ВНИМАНИЕ! Держать пробирки в магнитном штативе при удалении надосадочной жидкости. Использовать отдельный одноразовый наконечник с аэрозольным барьером для каждого анализируемого образца.

ВНИМАНИЕ! При добавлении растворов из пп. 15.9-15.12, пробирки не вынимать из магнитного штатива! На каждом этапе необходимо убедиться, что магнитные частицы все время остаются смоченными растворами.

НЕ ДОПУСКАТЬ высыхания магнитных частиц!

15.7. Внести **по 500 мкл «ПР-1»** в каждую пробирку.

НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ! Убрать надосадочную жидкость пипеточным дозатором или вакуумным отсасывателем из пробирок, не задевая осадок магнитных частиц, и держа пробирки в магнитном штативе.

15.8. Внести **по 200 мкл «ПР-2»** в каждую пробирку.

НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ! Убрать надосадочную жидкость пипеточным дозатором или вакуумным отсасывателем из пробирок, не задевая осадок магнитных частиц, и держа пробирки в магнитном штативе.

15.9. Открыть пробирки и подсушить осадок магнитных частиц в твердотельном термостате при температуре 65 °С в течение 5 минут.

15.10. Не вынимая пробирки из твердотельного термостата добавить на дно пробирок по 50 мкл «ЭР». Закрыть крышки пробирок.

Проверить, что «ЭР» полностью покрывает магнитные частицы, иначе аккуратно перемешать в течение 1-3 секунд на вортексе.

15.11. Инкубировать пробирки в твердотельном термостате при температуре 65 °С в течение 10 минут.

15.12. После инкубации перемешать образцы на вортексе в течение 5 с и осадить капли на миницентрифуге.

Образцы выделенной РНК готовы для постановки ПЦР анализа.

ВНИМАНИЕ! Образцы выделенной РНК хранить при температуре 2-8 °С не более 30 минут.

Полученные образцы РНК разрешается замораживать, но не более 1 раза. Большое количество циклов размораживания-оттаивания выделенных образцов РНК и более длительное хранение при температуре 2-8 °С может приводить к получению ложноотрицательных результатов.

Перед внесением в реакционную смесь пробирки с образцами выделенной РНК необходимо поставить на магнитный штатив.

ВНИМАНИЕ! Отбирать образец выделенной РНК для постановки ПЦР необходимо аккуратно, избегая попадания магнитных частиц в наконечник пипеточного дозатора.

16. ПОДГОТОВКА К ПРОВЕДЕНИЮ АНАЛИЗА

Вскрыть упаковку с компонентами набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР. Пробирки с компонентами набора реагентов проверить на целостность и срок годности. При обнаружении повреждения или при истечении срока годности компоненты набора реагентов следует обработать в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению.

Все компоненты набора реагентов готовы к использованию.

Перед применением все компоненты набора реагентов, **кроме «Фермент RT» и «Фермент Р»**, инкубировать при комнатной температуре до достижения комнатной температуры, аккуратно перемешать и осадить капли с крышки пробирки, возможно для этого использование центрифугирования в течение 1-3 секунд.

Хранение: неиспользованные и вскрытые компоненты хранить при температуре (минус 16-минус 24) °С в течение срока годности набора реагентов. Неиспользованный «РС» хранить в защищенном от света месте, поместив в пакет из комбинированного материала, сразу после приготовления реакционной смеси.

ВНИМАНИЕ! Запрещается хранение компонентов «Фермент RT» и «Фермент Р» при комнатной температуре, а также хранение «РС» на свету.

17. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси («РС», «Фермент RT» и «Фермент Р») смешивать непосредственно перед проведением анализа

Подготовка планшета 96-луночного	Достать планшет 96-луночный из пакета с zip-lock. Рассчитать количество лунок в соответствии с количеством <i>образцов выделенной РНК</i> и контрольных образцов, исходя из того, что каждый <i>образец выделенной РНК</i> будет анализироваться в одном повторе. Расчет количества лунок производится по формуле: Количество лунок (N) = $n + 2$, где n – количество <i>образцов выделенной РНК</i>, 2 – «К+» и «К-» При необходимости промаркировать лунки планшета, согласно идентификационному номеру исследуемого образца. Планшет поместить на ледяную баню или хладагент (Внимание! не замораживать) Дополнительно рекомендуется использовать крио-штативы для того, чтобы образцы выделенной РНК в планшете не нагревались выше 2-8 °С
---	--

ВНИМАНИЕ! В зависимости от используемого оборудования для проведения анализа надписи на планшете следует располагать таким образом, чтобы они не мешали детектированию флуоресцентного сигнала. См. руководство по эксплуатации амплификатора

Приготовление реакционной смеси	В пробирке вместимостью 1,5 – 2,0 мл для приготовления реакционной смеси смешать компоненты «РС» и холодные! «Фермент RT» и «Фермент Р», из расчета на необходимое число лунок, согласно приведенной ниже таблице. Перемешать приготовленный раствор на вортексе и осадить капли с крышки пробирки коротким центрифугированием (1-3 с)
--	--

Название компонента	Объем реагента на один образец (без учета контрольных образцов)	Объем реагента для анализа n образцов выделенной РНК с учетом постановки контрольных образцов
«РС»	14 мкл	$(N + 1) * 14$ мкл
«Фермент RT»	0.5 мкл	$(N + 1) * 0.5$ мкл
«Фермент Р»	0.5 мкл	$(N + 1) * 0.5$ мкл

Пример: Количество образцов выделенной РНК – 5 шт.

$$N = 5 + 2 = 7.$$

Следовательно, необходимо смешать: $(7 + 1) * 14$ мкл = 112 мкл «РС»

$$(7 + 1) * 0.5 = 4 \text{ мкл «Фермент RT»}$$

$$(7 + 1) * 0.5 = 4 \text{ мкл «Фермент Р»}$$

Внесение реакционной смеси	В каждую промаркированную лунку 96-луночного планшета (холодного!) внести по 15 мкл реакционной смеси (или возможно использование микропробирок типа эппендорф вместимостью 0,2 мл с крышкой)
Внесение образцов в лунки 96-луночного планшета или в пробирки для амплификатора «Rotor Gene»	В каждую промаркированную лунку 96-луночного планшета (или в пробирку для амплификатора «Rotor Gene») внести по 5 мкл подготовленных <i>образцов выделенной РНК</i>, затем в предпоследнюю и последнюю - по 5 мкл контрольных образцов «К+» и «К-», соответственно. ВНИМАНИЕ! Для каждого образца выделенной РНК и контрольных образцов использовать новый наконечник. Не допускать образование пузырей! Отрезать фрагмент подходящего размера от входящей в набор реагентов пленки для запаивания и плотно! наклеить его на промаркированные лунки, используя для этого аппликатор. Пленка приклеивается к краям лунок при надавливании. Перед постановкой в амплификатор рекомендуется осадить капли со стенок лунок.

	ВНИМАНИЕ! Очень важно герметично запаивать планшет, чтобы не происходило испарение во время амплификации, во избежание получения ложноположительных результатов, а также избежание контаминации лаборатории.
ВНИМАНИЕ! Планшет с реакционной смесью и образцами выделенной РНК незамедлительно поместить в заранее подготовленный амплификатор и начать проведение анализа!	
Регистрация результатов анализа	Выполнить в соответствии с разделом «Процедурой измерения и оценки результата»

Процедура измерения и оценка результата

Ввести в амплификатор программу проведения обратной транскрипции совмещенной с ОТ-ПЦР:

Условия реакции	1. 37 °C 15 мин. 2. 95 °C 15 мин. 3. 40 циклов: 95 °C 10 с. 60 °C 10 с. 72 °C 10 с.
------------------------	---

ВНИМАНИЕ! Считывание флуоресценции осуществлять на этапе при 60°C

Для детектирования следует выбирать канал детекции **ROX, HEX и FAM**.

Запрограммировать положение лунок с контрольными и *образцами выделенной РНК* согласно инструкции к прибору.

Поместить планшет с реакционной смесью и образцами выделенной РНК в амплификатор.

Запустить программу и провести обратную транскрипцию, совмещенную с ОТ-ПЦР.

18. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

18.1. Условия правильности работы набора реагентов

В положительном контроле «К+» прибор должен определять:

- нарастание сигнала флуоресценции в каналах **ROX, HEX и FAM**.

В отрицательном контроле «К-» прибор должен:

- НЕ фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале **ROX**.

- НЕ фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале **HEX**.

- Не фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале **FAM**.

В анализируемом образце, при наличии РНК коронавируса SARS-CoV-2, прибор должен:

- фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в каналах **ROX, HEX и FAM** и определять значение порогового цикла **Ct** (пересечение кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией) в каналах **ROX, HEX и FAM**.

В анализируемом образце, НЕ содержащем РНК коронавируса SARS-CoV-2, прибор должен:

- НЕ фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в каналах **ROX и HEX** и не определять **Ct** в каналах **ROX и HEX**.

- фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале **FAM** и определять **Ct** в канале **FAM**.

18.2. Учет результатов анализа

Для отрицательного контроля «К-»: значение **Ct** в каналах **ROX, HEX и FAM** не должно определяться. Если для «К-» значение **Ct** в каналах **ROX и/или HEX** определяется, это свидетельствует о наличии контаминации в системе. В этом случае результаты по данной

постановке считаются недостоверными. Требуется предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить анализ всех образцов данной постановки, для которых получен положительный результат. Образцы данной постановки, анализ которых дал отрицательный результат, следует учитывать, как отрицательные.

Для положительного контроля «К+»: значение Ct в каналах **ROX, HEX и FAM** должно определяться. Если для «К+» значение Ct в каналах ROX и/или HEX и/или FAM не определяется это свидетельствует о том, что амплификация либо не прошла, либо прошла не корректно. В этом случае необходимо повторить анализ всех образцов данной постановки.

18.3. Интерпретация результатов анализа

Если в анализируемом образце значение Ct в каналах **ROX и HEX** не определяется, а значение Ct в канале **FAM** определяется до 35 цикла, анализируемый образец считать **отрицательным**, то есть не содержащим РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Если в анализируемом образце значение Ct в каналах **ROX и/или HEX** определяется до 38 цикла, при этом Ct в канале **FAM** определяется до 35 цикла, анализируемый образец считать **положительным**, то есть содержащим РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Если в анализируемом образце значение Ct в канале **ROX, HEX и FAM** не определяется, результат анализа образца считать не достоверным. Вероятна низкая концентрация РНК SARS-CoV-2 в анализируемом образце. Требуется повторное выделение препарата нуклеиновых кислот, либо повторное взятие клинического материала.

19. КОНТАМИНАЦИЯ

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

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

20. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества Набора реагентов «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК» при изготовлении осуществляет ОБТК предприятия-изготовителя согласно ТУ 21.20.23-068-26329720-2021.

21. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Только для диагностики *in vitro*.

Для выявления наличия или отсутствия РНК коронавируса SARS-CoV-2, рекомендуется использовать указанный в п.11 биологический материал, так как РНК коронавируса SARS-CoV-2 может не выявляться в других клинических образцах.

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

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

Набор реагентов не выявляет наличие коронавируса SARS-CoV-2, если концентрация коронавируса ниже предела обнаружения теста – 1000 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца.

22. ОЦЕНКА ВЕРОЯТНЫХ СОБЫТИЙ

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

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

Специфические воздействия Набора реагентов на организм человека: канцерогенный эффект отсутствует, мутагенное действие отсутствует, репродуктивная токсичность отсутствует.

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

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

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

23. УТИЛИЗАЦИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

В процессе использования и утилизации набора реагентов токсичные отходы не образуются.

Неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

Класс отходов определяется согласно СанПиН 2.1.3684-21.

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

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

Для обеззараживания и/или обезвреживания отходов в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» использовать зарегистрированные в РФ дезинфицирующие средства и оборудование в соответствии с инструкциями по их применению.

Отходы утилизировать через организации, имеющие лицензию на этот вид деятельности.

24. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

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

24.1. Условия хранения

«Комплект реагентов для выделения НК», «Планшет 96-луночный для проведения ПЦР» и «Пленку для запаивания планшета 96-луночного» хранить при температуре от 2 до 8°C в течение срока годности.

«Комплект реагентов для проведения ОТ-ПЦР» хранить при температуре от минус 16 до минус 24°C в течение всего срока годности.

Хранение «Комплекта реагентов для выделения НК», «Планшета 96-луночный для проведения ПЦР», «Пленки для запаивания планшета 96-луночного» и «Комплекта реагентов для проведения ОТ-ПЦР» при температуре от 2 до 8°C и от минус 16 до минус 24°C соответственно должно осуществляться в холодильных и морозильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

24.2. Условия транспортирования

«Комплект реагентов для выделения НК», «Планшет 96-луночный для проведения ПЦР» и «Пленку для запаивания планшета 96-луночного» транспортировать при температуре от 2 до 8°C.

Не замораживать!

Комплект реагентов для проведения ОТ-ПЦР» транспортировать при температуре от минус 16 до минус 24°C.

Допускается однократное транспортирование набора реагентов («Комплект реагентов для выделения НК» и «Комплект реагентов для проведения ОТ-ПЦР») при температуре от 2 до 8°C в течение не более 5 суток.

Транспортирование набора реагентов производится всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при соблюдении указанного выше температурного режима.

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

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

24. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности Набора реагентов «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК» составляет 12 месяцев с даты производства набора реагентов.

Сроки годности вскрытых компонентов набора реагентов - в течение срока годности набора реагентов.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

25. СВЕДЕНИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ:

ООО «Медико-биологический Союз»

630090, г. Новосибирск, ул. Инженерная, д.16, оф. 353

тел: +7 (383) 363-77-14, 363-77-16

факс: +7 (383) 363-77-18

E-mail: info@mbu.ru

www.mbu.ru

26. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ И СВЕДЕНИЯ О РЕКЛАМАЦИЯХ

Производитель гарантирует соответствие выпускаемого Набора реагентов «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК» требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки набора реагентов, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил применения, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить набор реагентов, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления набора реагентов производителем.

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК», а также в случае изменения аналитических характеристик следует обращаться к производителю: ООО «Медико-биологический Союз», 630090, г. Новосибирск, ул. Инженерная, д.16, оф. 353, тел: +7 (383) 363-77-14, 363-77-16, факс: +7 (383) 363-77-18, info@mbu.ru.

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

27. СИМВОЛЫ, НАНОСЫМЫЕ НА УПАКОВКУ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Код партии
		Содержимого достаточно для n-тестов		Использовать до
		Обратитесь к инструкции по применению		Температурный диапазон
		Беречь от влаги		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
		Не использовать при повреждённой упаковке		Не допускать воздействия солнечного света
		Запрет на повторное применение		
Место нанесения: «ЛБ»		«Восклицательный знак»	Сигнальное слово: «Опасно» H302: Вредно при проглатывании H332: Вредно при вдыхании Место нанесения: «ЛБ» H314: При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги H402: Вредно для водных организмов H413: Может вызвать долгосрочные отрицательные последствия для водных организмов	
		«Жидкость, выливающаяся из двух пробок, поражающая металл и руку»		

Место нанесения: «РП», «ПР-1», «ПР-2»		«Пламя»	Сигнальное слово: «Опасно» H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение H336: Может вызывать сонливость и головокружение
		«Восклицательный знак»	

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»


 _____ П.К. Варнавичус
 «25» июня 2021 г.

Прошито пронумеровано скреплено
печатью на (21) листах
Директор ООО «Медико-биологический
Союз» М.В. Лосев



УТВЕРЖДАЮ

Директор

ООО «Медико-биологический Союз»

М.В. Лосев

« _____ » _____ 2021 г.



МАКЕТ МАРКИРОВКИ

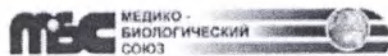
Набор реагентов для выделения и качественного выявления РНК SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции
в реальном времени

«МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК»

по ТУ 21.20.23-068-26329720-2021

серия (партия): 210006

1. Макет маркировки МИ - Набор реагентов для выделения и качественного выявления РНК SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК» по ТУ 21.20.23-068-26329720-2021 серия (партия): 210006.



Россия, 630060, г. Новосибирск, ул. Инженерная, 16
Отдел продаж: тел.: (383) 363-77-01, факс: (383) 363-77-09
e-mail: products@mbu.ru
http://www.mbu.ru

Набор реагентов для выделения и качественного выявления
РНК SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции и
полимеразной цепной реакции в реальном времени
«МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК»
по ТУ 21.20.23-068-26329720-2021



Состав набора

- | | |
|--|-------|
| 1. Комплект реагентов для выделения НК: | |
| 1.1 «ЛБ» - лизирующий буфер | 1 фл. |
| 1.2 «РП» - раствор для преципитации | 1 фл. |
| 1.3 «ПР-1» - буферный раствор для отмывки магнитных частиц 1 | 2 фл. |
| 1.4 «ПР-2» - буферный раствор для отмывки магнитных частиц 2 | 1 фл. |
| 1.5 «ЭР» - буферный раствор для элюции | 1 фл. |
| 2. Комплект реагентов для проведения ОТ-ПЦР: | |
| 2.1 «К+» - положительный контроль | 1 пр. |
| 2.2 «К-» - отрицательный контроль | 1 пр. |
| 2.3 «РС» - реакционная смесь | 1 пр. |
| 2.4 «Фермент RT» - MMLV-обратная транскриптаза | 1 пр. |
| 2.5 «Фермент Р» - Hot-start Taq-полимераза | 1 пр. |
| 3. Планшет 96-луночный для проведения ПЦР | 1 шт. |
| 4. Пленка для запаивания планшета 96-луночного | 1 шт. |
| 5. Инструкция по применению | 1 шт. |

LOT 210006

IVD



12.04.2022 ПУ № ____ от XX.XX.XXXX г.

IVD

Для клинической лабораторной диагностики

И

Внимание!!! При получении набора реагентов
**«Упаковку 1 из 2» («Комплект реагентов для
проведения ОТ-ПЦР»)** извлечь и хранить её в
течение всего срока годности при температуре
от минус 16 до минус 24°C

Остальные компоненты набора реагентов
хранить при температуре от 2 до 8°C

2.1 Макет маркировки пакета, содержащего «Комплект реагентов для проведения ОТ-ПЦР»

ООО "Медико-биологический Союз"	
Россия, 630090, г. Новосибирск, ул. Инженерная, 16 Отдел продаж: тел.: (383) 363-77-01, факс: (383) 363-77-09 e-mail: products@mbu.ru http://www.mbu.ru	
Набор реагентов для выделения и качественного выявления РНК SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в реальном времени «МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК» по ТУ 21.20.23-068-26329720-2021	
	
Состав Комплект реагентов для проведения ОТ-ПЦР:	
1 «К+» - положительный контроль	1 пр.
2 «К-» - отрицательный контроль	1 пр.
3 «РС» - реакционная смесь	1 пр.
4 «Фермент RT» - MMLV-обратная транскриптаза	1 пр.
5 «Фермент Р» - Hot-start Taq-полимераза	1 пр.
LOT 210006  12.04.2022 РУ № ____ от XX.XX.XXXX г. IVD       ^{-16 °C} 	
Упаковка 1 из 2 Внимание!!! «Комплект реагентов для выделения НК» набора реагентов транспортируется отдельно	



Макет маркировки компонентов МИ

3.1 Макет маркировки компонента МИ – «ЛБ» – лизирующий буфер.



3.2 Макет маркировки компонента МИ – «РП» – раствор для преципитации.



3.3 Макет маркировки компонента МИ – «ПР-1» – буферный раствор для отмывки магнитных частиц 1.



3.4. Макет маркировки компонента МИ – «ПР-2» – буферный раствор для отмывки магнитных частиц 2.



3.5. Макет маркировки компонента МИ – «ЭР» – буферный раствор для элюции.



3.6. Макет маркировки компонента МИ – «К+» – положительный контроль.

3.6.1 Флакон:



3.6.2 Пакет полиэтиленовый с замком zip-lock, содержащий флакон с «К+»:



3.7. Макет маркировки компонента МИ – «К-» – отрицательный контроль.



3.8. Макет маркировки компонента МИ – «РС» – реакционная смесь.

3.8.1 Флакон:



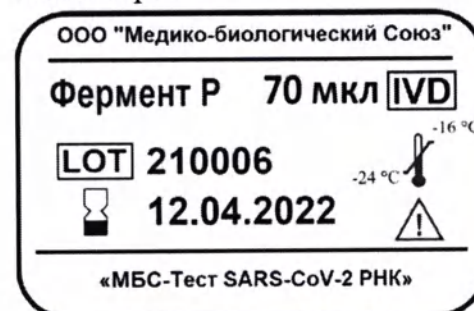
3.8.2 Непрозрачный пакет полиэтиленовый с замком zip-lock, содержащий флакон с «РС»:



3.9. Макет маркировки компонента МИ – «Фермент RT» – MMLV обратная транскриптаза.



3.10. Макет маркировки компонента МИ – «Фермент Р» – Hot-start Taq-полимераза.



3.11 Макет маркировки пакета полиэтиленового с замком zip-lock, содержащего компоненты МИ – Планшет 96-луночный для проведения ПЦР и Пленка для запаивания планшета 96-луночного

ООО "Медико-биологический Союз"

1. Планшет 96-луночный 1 шт.
для проведения ПЦР

LOT 210006



12.04.2026

2. Пленка для запаивания 1 шт.
планшета 96-луночного

LOT 210006



12.04.2023

IVD



Упаковка 2 из 2

«МБС-Тест SARS-CoV-2 РНК»

прошито и пронумеровано скреплено
печатью на () листах
Директор ООО «Медико-биологический
Союз» М.В. Посев

