

«УТВЕРЖДАЮ»

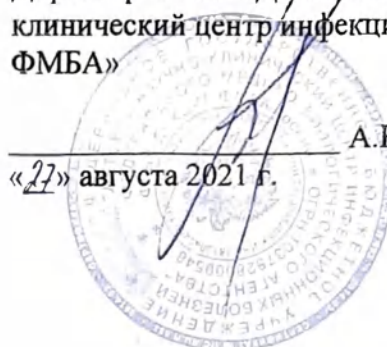
Директор
ООО «ЛАРК»



Цветкова А.С.

«СОГЛАСОВАНО»

Директор ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА»



А.Н. Усков

«27» августа 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

на медицинское изделие

«Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (SARS-CoV-2-Lark) по ТУ 21.20.23-001-44017384-2021, серия LARK_SARS2_0.01», производства Общество с ограниченной ответственностью «ЛАРК», Россия.

Версия 1.0

редакция в соответствии с запросом о предоставлении материалов и сведений от 25.08.2021 № 5303/21

№ 1



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

ООО «ЛАРК»



Цветкова А.С.

25 августа 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению

на медицинское изделие

**«Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2
методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в
режиме реального времени (SARS-CoV-2-Lark) по ТУ 21.20.23-001-
44017384-2021, серия LARK_SARS2_0.01»**

Версия 1.0

редакция в соответствии с запросом о предоставлении материалов и
сведений от 25.08.2021 № 5303/21



для диагностики *in vitro*



P0101



100



Производитель: ООО «ЛАРК»,
Россия, 603000, г. Нижний Новгород,
ул. Звездинка, дом № 20А, помещение П1
+7(831) 294-21-35
ask@larklab.ru
<https://larklab.ru/>

Адрес производства: ООО «НаноДиагностика»,
Россия, 123098, город Москва,
пл. академика Курчатова, д. 2, стр. 1.

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. Наименование медицинского изделия.....	3
2. Предназначенное применение.....	3
2.1. Показания к применению.....	3
2.2. Противопоказания.....	3
3. Принципы метода исследования.....	3
4. Сокращения.....	4
5. Состав набора.....	4
6. Требуемое дополнительно оборудование.....	5
7. Подготовка образцов.....	6
8. Условия хранения и транспортировки.....	6
9. Предупреждения и предостережения.....	7
10. Указания по эксплуатации.....	8
11. Методика исследования.....	8
11.1. Подготовка компонентов набора реагентов.....	8
11.2. Выделение образцов тотальной РНК.....	9
11.3. Проведение амплификации:.....	9
12. Интерпретация результатов.....	10
13. Функциональные характеристики.....	12
13.1. Аналитические характеристики.....	12
13.1.1. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения).....	12
13.1.2. Аналитическая специфичность.....	12
13.1.3. Потенциально интерферирующие вещества.....	12
13.1.4. Воспроизводимость.....	13
13.2. Диагностические характеристики.....	13
14. Ограничения методики исследования.....	13
15. Срок годности.....	13
16. Предупреждения.....	13
17. Утилизация.....	13
18. Техническое обслуживание.....	14
19. Очистка, дезинфекция, стерилизация.....	14
20. Сведения о лекарственных средствах, фармацевтических субстанциях, материалах животного и (или) человеческого происхождения.....	14
21. Гарантийные обязательства производителя.....	14
22. Производитель и место производства медицинского изделия.....	14
23. Расшифровка символов.....	15

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

1. Наименование медицинского изделия

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (SARS-CoV-2-Lark) по ТУ 21.20.23-001-44017384-2021, серия LARK_SARS2_0.01,

В составе:

1. ОТ-ПЦР буферный раствор, 1350 мкл – 1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл);
2. Смесь для амплификации «Праймеры», 165 мкл – 1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл);
3. Ферменты, 110 мкл – 1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл);
4. Положительный контрольный образец «ПКО», 150 мкл – 1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл);
5. Отрицательный контрольный образец «ОКО», 1400 мкл – 2 пробирки (типа эппендорф объемом 1,5 мл);
6. Внутренний контрольный образец «ВКО», 330 мкл – 1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл);
7. Паспорт – 1 шт.;
8. Инструкция по применению.

2. Предназначенное применение

Набор предназначен для качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 в клиническом материале (в мазках со слизистой носоглотки и ротоглотки человека) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени у лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания с подозрением на инфекцию COVID-19.

Область применения - клиническая лабораторная диагностика.

При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.), СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и с использованием 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».

К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, 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.

2.1. Показания к применению

Необходимость выявления РНК SARS-CoV-2 методом 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.

2.2. Противопоказания

Противопоказаний в рамках установленного производителем назначения не имеет.

3. Принципы метода исследования

Принцип метода основан на амплификации и визуализации генетического материала SARS-CoV-2 с помощью ПЦР в реальном времени после выделения тотальной РНК с конверсией в

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

кДНК из мазков со слизистой носоглотки или ротоглотки пациентов с симптомами пневмонии или респираторной инфекции. Процедура включает: выделение общей РНК из клинических образцов, синтез тотальной кДНК и амплификация фрагментов кДНК высоко консервативного гена N SARS-CoV-2 и кДНК внутреннего контрольного образца. Синтетические целевые фрагменты кДНК генома SARS-CoV-2 используются в качестве положительного контроля, бактериофаг, содержащий специфическую РНК, в качестве внутреннего экзогенного контрольного образца. Обратная транскрипция проводится при помощи генетически модифицированной обратной транскриптазы (ревертазы) вируса лейкемии мышей (M-MLV). В наборе реагентов «SARS-CoV-2-Lark» использована инактивированная антителами Taq-полимераза, требующая прогрева амплификационной смеси при 95°C в течение 5 мин на стадии первичной денатурации для активации фермента. Детекция флуоресцентного сигнала осуществляется непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

4. Сокращения

ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
кДНК	Комплементарная ДНК, получаемая в реакции обратной транскрипции на матрице РНК
ОКО	Отрицательный контрольный образец
ПКО	Положительный контрольный образец
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
РНК	Рибонуклеиновая кислота
Ct	Пороговый цикл

5. Состав набора

Состав набора реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (SARS-CoV-2-Lark).

Таблица 1

Состав	Объем, мл ($\pm 5\%$)	Количество	Описание
ОТ-ПЦР буферный раствор	1350 мкл	1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл)	Прозрачная бесцветная жидкость
Смесь для амплификации «Траймеры»	165 мкл	1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл)	Прозрачная бесцветная жидкость
Ферменты	110 мкл	1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл)	Прозрачная вязкая бесцветная жидкость
Положительный контрольный образец «ПКО»	150 мкл	1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл)	Прозрачная бесцветная жидкость
Отрицательный контрольный образец «ОКО»	1400 мкл	2 пробирки (типа эппендорф объемом 1,5 мл)	Прозрачная бесцветная жидкость
Внутренний контрольный образец «ВКО»	330 мкл	1 пробирка (типа эппендорф объемом 1,5 мл)	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению Паспорт			

Масса набора: 21 $\pm$ 2 г.

Набор реагентов рассчитан на проведение 100 реакций, включая контроли.

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

6. Требуемое дополнительно оборудование

Для работы с набором реагентов необходимо следующее оборудование:

- амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени;
- бокс абактериальной воздушной среды 2-го класса биологической защиты (далее по тексту – ПЦР-бокс);
- морозильная камера, поддерживающая температуру до минус 20 °С или холодильник с морозильной камерой, поддерживающей температуру до минус 20 °С;
- микроцентрифуга;
- встряхиватель для пробирок (далее по тексту - встряхиватель);
- одноканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 1 до 1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 %;
- штативы для микропробирок вместимостью 0,2 и 2,0 мл;
- контейнер для сбора и обеззараживания наконечников.

Для работы с набором реагентов необходимы следующие материалы:

- перчатки медицинские одноразовые нестерильные;
- одноразовые наконечники для полуавтоматических одноканальных дозаторов пипеточных с аэрозольным барьером;
- пробирки одноразовые полипропиленовые вместимостью 1,5 – 2,0 мл;
- тонкостенные микропробирки, стрипы или планшеты для ПЦР, рекомендуемые производителем амплификатора для ПЦР.

Рекомендации по применяемому оборудованию и средствам измерения

Наименование оборудования	Характеристика оборудования
Амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени	<i>Модель:</i> ДТпрайм <i>Производитель:</i> ООО «НПО ДНК-Технология», Россия <i>Технические характеристики:</i> - рабочий диапазон температур: от 25 до 105 °С, <i>Максимальное отклонение средней температуры:</i> ± 1,0 °С РУ ФСР 2011/10229 от 03.03.2011 г.
	<i>Модель:</i> RotorGene Q <i>Производитель:</i> «КИАГЕН ГмбХ», Германия <i>Технические характеристики:</i> - 5 оптических каналов измерения флуоресценции, - рабочий диапазон температур: от 35 до 99 °С, <i>Максимальное отклонение средней температуры:</i> ± 1,0 °С РУ ФСЗ 2010/07595 от 10.08.2010 г.
	<i>Модель:</i> Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, с принадлежностями, вариант исполнения: C1000 Touchs модулем реакционным оптическим CFX96 (OpticalReactionModule CFX96) <i>Производитель:</i> "Био-Рад Лабораториз, Инк.", Сингапур <i>Технические характеристики:</i> - 4 независимых канала измерения флуоресценции, - рабочий диапазон температур: от 25 до 100 °С, <i>Максимальное отклонение средней температуры:</i> ± 1,0 °С РУ ФСЗ 2008/03399 от 21.06.2016
Микроцентрифуга	<i>Модель:</i> Minispin <i>Производитель:</i> Eppendorf

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

Наименование оборудования	Характеристика оборудования
	Технические характеристики: - вместимость — 12×1,5/2,0 мл, - максимальное ускорение — до 12 100 g (до 13 400 об/мин)
Встряхиватель для пробирок	Модель: V-1 plus Производитель: Biosan Технические характеристики: - тип движения: циркуляционно-вибрационное; - частота колебаний, мин-1 — 250—3000; - амплитуда колебаний, мм — 4; - объем пробирок — 1,5—50 мл
Дозаторы переменного объема однократного дозирования одноканальные	Производитель: ООО «Термо Фишер Сайентифик», Россия
Бытовой холодильник с морозильным отделением	Модель: STINOL RF 345A.008-WI-SNG Производитель: ООО «Завод холодильников СТИНОЛ», Россия Температура в холодильной камере: от 0 до 10 °C Температура в морозильной камере: минус 18 °C
П р и м е ч а н и е – Допускается использование аналогичного оборудования и средств измерения других фирм, обеспечивающих заданную точность	

7. Подготовка образцов

Биологическим материалом для исследования являются: материал, полученный со слизистой носоглотки и ротоглотки пациентов с симптомами пневмонии или респираторной инфекции.

Рекомендуется использовать следующие транспортные среды:

- Транспортный раствор (М), С-8867 («Вектор-Бест»);

- Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда для мазков» по ТУ 9398-088-01897593-2009, производства ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия.

Выделение РНК рекомендуется проводить с помощью «Комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-сорб» по ТУ 9398-004-01897593-2008», ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; «Комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК из клинического материала «АмплиПрайм РИБО-преп» по ТУ 9398-005-09286667-2012», ООО «НекстБио», Россия. Для контроля всех этапов выявления вирусной РНК добавляйте в каждую пробирку с клиническими образцами 3 мкл «ВКО» из набора SARS-CoV-2-Lark.

Стабильность образца: Мазок из носоглотки и ротоглотки стабилен при температуре 2-8°C не более 5 дней и при -70°C (сухой лед) более 5 дней.

8. Условия хранения и транспортировки

Компоненты набора хранить при температуре от минус 25 до минус 15 °C в защищенном от света месте. Пробирку «ВКО» хранить при 2-8 °C в течение срока годности набора реагентов. Перед транспортировкой все компоненты, относящиеся к одной серии набора, упаковать в картонную коробку в соответствии с паспортом к набору.

Транспортирование наборов реагентов производить в соответствии с СП 3.3.2.3332 при температуре от 2 до 8 °C не более 5 дней.

При транспортировании разрешено использовать любой крытый вид транспорта (воздушный, железнодорожный, морской, автомобильный).

Наборы, транспортировавшиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат!

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Неиспользованные и вскрытые компоненты «ОТ-ПЦР буферный раствор», «Праймеры», «ПКО» и «ОКО» хранить при температуре от минус 15 до минус 25 °С в защищенном от света месте в течение срока годности набора реагентов. Пробирку «ВКО» хранить при 2-8 °С в течение срока годности набора реагентов.

9. Предупреждения и предостережения

1. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинично-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.), СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и с использованием 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».

К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, 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.

2. Использовать только для диагностики *in vitro*.

3. Потенциальный риск применения набора реагентов SARS-CoV-2-Lark - класс 3.

4. Работу с использованием набора реагентов SARS-CoV-2-Lark осуществлять согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности, а также ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».

5. Следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

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

7. 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 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».

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.

8. 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.

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

9. 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.
10. Лабораторное оборудование и принадлежности, которые используются при работе с Набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.
11. Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
12. Набор реагентов готов к применению в соответствии с данной инструкцией. Применять Набор реагентов строго по назначению.
13. Допускать к работе с набором SARS-CoV-2-Lark только специально обученный персонал.
14. Не использовать набор реагентов SARS-CoV-2-Lark, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
15. Не использовать набор реагентов SARS-CoV-2-Lark, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
16. Не использовать набор SARS-CoV-2-Lark по истечении срока годности.
17. Использовать одноразовые неопудренные медицинские перчатки, лабораторные халаты, защитные очки 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.

10. Указания по эксплуатации

1. Набор реагентов SARS-CoV-2-Lark должен применяться согласно инструкции по применению, утвержденной в установленном порядке.
2. При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.), СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и с использованием 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».
- К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, 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.
3. Исследования с использованием набора SARS-CoV-2-Lark проводятся в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.
4. Недопустимо использование компонентов наборов реагентов разных комплектов или смешивание их в процессе приготовления растворов.

11. Методика исследования

11.1. Подготовка компонентов набора реагентов

«ОТ-ПЦР буферный раствор», «Праймеры», «ПКО», «ОКО» и «ВКО» готовы к использованию.

Перед применением «Праймеры» и «ОТ-ПЦР буферный раствор» необходимо разморозить при комнатной температуре, аккуратно перемешать и осадить капли с крышки пробирки кратким центрифугированием в течение 1-5 с.

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

Хранение: неиспользованные и вскрытые компоненты «ОТ-ПЦР буферный раствор», «Праймеры», «ПКО» и «ОКО» хранить при температуре от минус 15 до минус 25 °С в защищенном от света месте в течение срока годности набора реагентов. Пробирку «ВКО» хранить при 2-8 °С в течение срока годности набора реагентов.

«Ферменты» готовы к использованию.

ВНИМАНИЕ! «Ферменты» не требует размораживания, пробирку хранить в морозильной камере при температуре минус 20 °С. «Ферменты» следует добавлять в реакционную смесь непосредственно перед анализом, затем сразу убирать в морозильную камеру.

Хранение: неиспользованные и вскрытые компоненты «Ферменты» хранить при температуре от минус 15 до минус 25 °С в течение срока годности набора реагентов.

11.2. Выделение образцов тотальной РНК

Выделение РНК рекомендуется проводить с помощью «Комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-сорб» по ТУ 9398-004-01897593-2008», ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; «Комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК из клинического материала «АмплиПрайм РИБО-преп» по ТУ 9398-005-09286667-2012», ООО «НекстБио», Россия. Для контроля всех этапов выявления вирусной РНК добавляйте в каждую пробирку с клиническими образцами 3 мкл «ВКО» из набора SARS-CoV-2-Lark. Для постановки отрицательного контроля добавляйте в пробирку объем ОКО, равный объему пробы, и 3 мкл «ВКО» из набора SARS-CoV-2-Lark.

11.3. Проведение амплификации:

Подготовка пробирок для амплификации:

ВНИМАНИЕ! При работе с ДНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free («без ДНКаз и РНКаз»). Для внесения в пробирки реагентов, проб ДНК и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

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

Подготовка микропробирок	Отобрать необходимое для проведения анализа число пробирок или стрипированных пробирок, промаркировать и расположить в штативе. Расчет количества микропробирок производится по формуле: $N = \text{КОЛИЧЕСТВО КЛИНИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ} + \text{ПКО} + \text{ОКО} + 1 (\text{запас})$
--------------------------	---

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

Приготовление реакционной смеси	В пробирке объемом 1,5 - 2 мл смешать реагенты для приготовления реакционной смеси из расчета на необходимое число микропробирок, согласно приведенной ниже таблице. Тщательно перемешать приготовленный раствор и осадить капли с крышки пробирки кратким центрифугированием (1-5 с).
---------------------------------	--

Название реагента	Объем реагента на одну пробирку	Объем реагента для анализа N исследуемых образцов с учетом
-------------------	---------------------------------	--

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

		контрольных образцов и 10% запаса
«ОТ-ПЦР буферный раствор»	12,5 мкл	$12,5 \times (N+2) \times 1,1$ мкл
«Праймеры»	1,5 мкл	$1,5 \times (N+2) \times 1,1$ мкл
«Ферменты»	1 мкл	$1 \times (N+2) \times 1,1$ мкл

Внесение реакционной смеси	В каждую микропробирку внести по 15 мкл реакционной смеси
Внесение реакционной смеси и образцов в пробирки	2 пробирки: в первую внести по 10 мкл отрицательного контроля (ОКО), во вторую – 10 мкл положительного контрольного образца (ПКО). В остальные – по 10 мкл клинических образцов. Закрывать крышки пробирок. Перед постановкой в амплификатор рекомендуется осадить капли со стенок пробирок кратким центрифугированием (1-5 с).
Регистрация результатов анализа	Выполнить в соответствии с «Процедурой измерения, анализа и интерпретации результатов»

Ввести в прибор для ПЦР программу проведения амплификации и детекции флуоресцентных сигналов:

Количество циклов	Температура (°C)	Время (продолжительность) цикла	Измерение флуоресценции в каналах
1	42	15 мин	-
1	95	5 мин	-
45	95	7 с	
	60	20 с	FAM/Green, HEX/ Yellow

Распределение мишеней по каналам детекции:

Канал детекции	FAM	HEX
Мишень	ВКО	SARS-CoV-2 Ген N

Для детектирования сигнала при амплификации молекул кДНК SARS-CoV-2 в системе используется гибридизационные ДНК-зонды, меченные, соответственно, флюорохромами FAM и HEX. Для детектирования сигнала при амплификации ВКО (экзогенный внутренний контроль) в системе используется гибридизационный ДНК-зонд, меченный флюорохромом FAM. Для детекции следует выбирать два канала детекции FAM/Green и HEX/ Yellow.

Запрограммировать положение пробирок с контрольными и анализируемыми образцами согласно методическим рекомендациям к соответствующему амплификатору для ПЦР.

Поместить пробирки в амплификатор.

Запустить программу и провести ПЦР с флуоресцентной регистрацией в режиме реального времени

12. Интерпретация результатов

Полученные данные – кривые накопления флуоресцентного сигнала анализируются с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР в соответствии с инструкцией к прибору.

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

Критические значения пороговых циклов по каналам FAM и HEX для интерпретации результатов теста.

Канал детекции		Интерпретация результата
FAM	HEX	
Клинические образцы		
Ct от 25 до 38	Ct до 38	Обнаружена РНК коронавируса штамма SARS-CoV-2
Ct от 25 до 34	Ct> 39	РНК коронавируса штамма SARS-CoV-2 не обнаружена
Ct от 34 до 38	Ct от 36 до 39	Результат данного образца не подлежат учету, требуется повторить анализ с этапа выделения РНК
Ct> 38	Ct любой	Результат данного образца не подлежат учету, требуется повторить анализ с этапа выделения РНК
ПКО		
Ct от 27 до 35	Ct от 27 до 35	Результат прохождения ПКО валиден
Ct любой	Ct> 35	Результаты всех образцов в данной постановке не подлежат учету
ОКО		
Ct от 25 до 34	Ct>39	Результат прохождения ОКО валиден
Ct от 25 до 34	Ct< 39	Результаты всех образцов в данной постановке не подлежат учету

Внимание! Критические значения пороговых циклов могут меняться в зависимости от серии набора. Необходимо пользоваться значениями, указанными в паспорте на набор.

Анализ полученных данных проводят с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по 2 каналам: FAM и HEX.

В биологических образцах, содержащих РНК вируса SARS-CoV-2, и в положительном контрольном образце (ПКО) детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу HEX, а также в канале FAM, что соответствует амплификации внутреннего контрольного образца (ВКО). При высокой вирусной нагрузке ($Ct_{HEX} < 20$) амплификация ВКО (канал FAM) может супрессироваться.

В биологических образцах, не содержащих РНК вируса SARS-CoV-2, и в отрицательном контрольном образце (ОКО) детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM (внутренний контрольный образец), экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу HEX отсутствует.

Результат оценивается как **недостоверный (нд)** в случае отсутствия экспоненциального роста уровня флуоресценции для внутреннего контрольного образца (ВКО) по каналу FAM, что может быть связано с некорректным выделением нуклеиновых кислот из клинического образца (потерями РНК) или наличием ингибиторов ферментов в выделенном препарате РНК.

Таким образом, **недостоверный результат** может быть связан с присутствием ингибиторов в образце РНК, полученном из клинического материала, неверным выполнением протокола анализа, несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется либо повторная постановка амплификации образца РНК, либо повторное выделение РНК из биологического материала, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

При отсутствии положительного результата (экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM) в Положительном контрольном образце (ПКО), результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всего пула образцов.

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

При получении положительного результата (экспоненциальный рост уровня флуоресценции по каналу FAM) в отрицательном контрольном образце (ОКО), результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения контаминации.

Результаты амплификации интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы РНК значения порогового цикла (Ct).

13. Функциональные характеристики

13.1. Аналитические характеристики

13.1.1. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Наименьшее число ГЭ/мл РНК коронавируса SARS-CoV-2, определяемых с помощью набора реагентов SARS-CoV-2-Lark на стандартной панели образцов «СП RNA-SARS-CoV2», составляет 5×10^2 ГЭ/мл. Для достижения данного показателя рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов для экстракции РНК, в которых для выделения РНК используется не менее 100 мкл клинического образца, а финальный объем полученного очищенного образца РНК составляет не более 50 мкл.

13.1.2. Аналитическая специфичность

Перекрестных реакций (аналитическая специфичность) не наблюдалось для кДНК коронавирусов 229E, NL63, OC43, ВИЧ, респираторно-синцитиальных вирусов (типы А и В), бокавирусов, риновирусов, вирусов парагриппа (типы 1-4), вируса гриппа, а также кДНК/ДНК человека в 100% случаев.

13.1.3. Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции были выбраны - 2% муцин, 3% периферическая кровь, и экзогенные вещества - водный раствор хлоргексидинабиглюконата.

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, представляющие собой мазки из носоглотки или ротоглотки, не содержащие РНК коронавируса SARS-CoV-2, содержащие стандартный образец предприятия CO-SARS-CoV-2-A в финальной концентрации 2×10^4 копий/мл, с последующим добавлением потенциально интерферирующих веществ до определенного процента и без добавления данных веществ. При разнице среднего значения порогового цикла между контрольными и испытываемыми образцами менее 1 цикла делали вывод об отсутствии влияния потенциально интерферирующих веществ на результат ОТ-ПЦР.

Таблица 2. Результаты тестирования влияния интерферирующих веществ.

Материал	Потенциальный интерферент	Наличие интерференции
Мазки	2% муцин	Не обнаружено
	3% кровь	Не обнаружено
	5% водный раствор хлоргексидинабиглюконата	Не обнаружено

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

13.1.4. Воспроизводимость

Воспроизводимость результатов исследований, проводимых с использованием набора реагентов SARS-CoV-2-Lark, была определена в разные дни, разными операторами, на различных приборах испытуемого набора путем тестирования положительных и отрицательных модельных образцов. Положительные образцы представляли собой разведения стандартного образца предприятия CO-SARS-CoV-2-A с концентрацией 8×10^2 копий/мл в количестве 10 повторов, в качестве отрицательного образца был использован ОКО в количестве 10 повторов.

Воспроизводимость в одной постановке – 100%.

Воспроизводимость в трех последовательных постановках выполненных через день – 100%.

13.2. Диагностические характеристики

Диагностическая чувствительность набора реагентов составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 92,89-100) при 50 положительных образцах.

Диагностическая специфичность набора реагентов составила 100% (доверительная вероятность 95%, ДИ: 96,38-100) при 50 отрицательных образцах.

14. Ограничения методики исследования

1. Только для диагностики *in vitro*.
2. Результаты анализа с использованием набора реагентов SARS-CoV-2-Lark должны интерпретироваться в сочетании с данными клинического обследования, эпидемиологического анамнеза и результатов лабораторных исследований в составе комплексной диагностики острого респираторного синдрома COVID-19.
3. 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 SARS-CoV-2-Lark не определяет наличие коронавируса SARS-CoV-2, если его концентрация ниже заявленной аналитической чувствительности.
4. Не допускать более 5 циклов замораживания/размораживания реагентов.
5. Набор реагентов предназначен для использования персоналом клинической лаборатории, специально обученным методам ПЦР в реальном времени.

15. Срок годности

1. Срок годности набора реагентов SARS-CoV-2-Lark составляет 12 месяцев с даты производства набора (датой производства считается день приемки ОБТК). Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.
 2. Срок годности вскрытых реагентов набора SARS-CoV-2-Lark соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, при условии соблюдения ограничения не допускать более 5 циклов замораживания/размораживания реагентов.
- Примечание:** Данные не подтверждены исследованиями в реальном времени.

16. Предупреждения

1. Отрицательные результаты не исключают возможность инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2 и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациентов.
2. Отрицательные результаты должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.
3. Тест не определяет наличие коронавируса SARS-CoV-2, если его концентрация ниже заявленной аналитической чувствительности (5×10^2 ГЭ/мл).

17. Утилизация

Использованные реактивы, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом необходимо собрать в пластиковые

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

закрывающиеся емкости и вынести в рабочую зону 4-1 либо специально предназначенное вспомогательное помещение (МУ 1.3.2569-09) с целью последующей инактивации согласно требованиям СанПиН 2.1.3684-21.

Учитывая потенциальную инфекционную опасность исследуемых образцов и их отходов, следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом, – остатки исследуемых образцов, не используемые для дальнейших исследований, относятся к классу Б.

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также в случае повреждения упаковки, необходимо утилизировать как отходы класса «А», как эпидемиологически безопасные отходы, по составу приближенные к ТБО (СанПиН 2.1.3684-21).

18. Техническое обслуживание

Набор не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

19. Очистка, дезинфекция, стерилизация

Набор не подлежит очистке, дезинфекции, стерилизации.

20. Сведения о лекарственных средствах, фармацевтических субстанциях, материалах животного и (или) человеческого происхождения

Набор не содержит материалов животного и (или) человеческого происхождения, а также лекарственных средств и фармацевтических субстанций.

21. Гарантийные обязательства производителя

Производитель гарантирует соответствие функциональных характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности (12 месяцев) при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

22. Производитель и место производства медицинского изделия

Организационно-правовая форма и полное наименование юридического лица	Общество с ограниченной ответственностью, «ЛАРК»
Сокращенное наименование юридического лица	ООО «ЛАРК»
Адрес (место нахождения) юридического лица	603000, Нижегородская обл, г. Нижний Новгород, ул. Звездинка, дом № 20А, помещение П1
Номера телефонов	+7(831) 294-21-35
Электронная почта	larknnov@gmail.com
Место производства медицинского изделия	ООО "НаноДиагностика". 123098, Город Москва, пл. академика Курчатова, д. 2, стр. 1.

Инструкция по применению «SARS-CoV-2-Lark»

23. Расшифровка символов

	Знак обращения на рынке		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Изготовитель/производитель		Обратитесь к инструкции по применению
	Номер по каталогу		Температурный диапазон
	Содержимого достаточно для проведения <i>n</i> -количества тестов (количество определений)		Беречь от влаги
	Код партии (номер серии)		Внимание
	Дата изготовления (YYYY-MM)		Верх
	Срок годности (дата истечения срока годности в формате YYYY-MM-DD)		Хрупкое, обращаться осторожно
	Не использовать при повреждении упаковки		Обращаться бережно
	Беречь от солнца		Логотип предприятия-изготовителя

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью
16 (шестнадцать) листов
Директор ООО «ЛАРК»

М.П. А.С. А.С. Цветкова

