

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Алльель»

Гамольский В.Л.

«28» апреля 2022г.



КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 по ТУ 21.20.23-002-83076696-2020.

Вариант исполнения:

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 2

Производитель:

Общество с ограниченной ответственностью
«Алльель Центр Инновационных Биотехнологий»

(Редакция 2)

КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 по ТУ 21.20.23-002-83076696-2020

1. Общая характеристика набора реагентов

полное наименование	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 по ТУ 21.20.23-002-83076696-2020
сокращенное наименование	Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F»
артикул исполнения	Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 2
каталожный номер	AL-RT-6
срок годности набора реагентов	12 месяцев при соблюдении режима хранения
условия хранения	Хранение при температурном режиме +2...+8°C
диапазон обнаружения	Качественный
диагностические характеристики	Диагностическая чувствительность - 100 % (99,98 % - 100 % с доверительной вероятностью 95%) Диагностическая специфичность - 100 % (99,98 % - 100 % с доверительной вероятностью 95%) Предел обнаружения - 1000 копий нуклеиновой кислоты (РНК) коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца Инклюзивность не менее 99%
контрольные образцы	Внутренний контроль выделения РНК и реакции обратной транскрипции; Положительный контроль к мишени гена N; Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ
общее время проведения анализа	Не более 76 минут* (без учета времени экстракции РНК)
режима проведения анализа	Одностадийный
объем биологического материала для анализа (РНК)	10 мкл
количество определений	Набор рассчитан на 96 определений, включая контроли
полнота компонентов набора реагентов к использованию	Готов к применению. Компоненты набора реагентов не требуют дополнительного разведения.
упаковка	Жидкие компоненты набора реагентов, расфасованные в пробирки с закрывающейся крышечкой; планшет на 96 лунок или стриппированные пробирки 12x8 лунок и пленка для заклеивания планшета, вложенные в картонную коробку с ложементом.
ситуационная документация	Краткая инструкция по применению. Полная инструкция доступна на сайте производителя.

программы амплификации для прибора Real-time CFX96 Touch (BIO-RAD)

Назначение

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 - одностадийный тест на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ), предназначенный для качественного определения нуклеиновых кислот (РНК) вируса SARS-CoV-2 в биологических пробах пациента, таких как мазки из носоглотки, ротоглотки (горла), а также смешанные образцы, полученные из мазков из носоглотки и ротоглотки от лиц с подозрением на инфекцию COVID-19. Использование набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 рекомендуется для in vitro диагностики и проведения эпидемиологических исследований.

Функциональное назначение: Прямой метод этиологической диагностики.

Принцип метода

Обнаружение вируса SARS-CoV-2 с помощью набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» достигается за счет экстракции нуклеиновых кислот (РНК) из клинических образцов верхних дыхательных путей с помощью мультиплексной ПЦР в режиме реального времени, совмещенной с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ), с использованием ПЦР амплификаторов с детекцией флуоресцентного сигнала на каналах FAM и HEX. Флуоресценция-флуоресцентная детекция позволяет проводить регистрацию продуктов амплификации в процессе прохождения реакции («в режиме реального времени»). Специфической мишенью в реакции ПЦР-РВ является ген N, специфичный для вируса SARS-CoV-2.

Флуоресцентная детекция специфических мишеней проводится в реакционном растворе. Олигонуклеотидный зонд, несущий флуоресцентную метку, специфически гибридизуется с детектируемым участком к ДНК. В ходе амплификации зонда ДНК ферментом ДНК-полимеразой, происходит разрушение зонда и высвобождение флуоресцентной метки в раствор, что делает возможным её регистрацию на флуоресцентном детекторе. Использование специально подобранных настроек амплификатора, анализирующая программа автоматически рассчитывает циклы пересечения кривых накопления флуоресцентного сигнала с пороговой линией - пороговый цикл (Ct) обратно пропорционально концентрации к ДНК в образце.

Кроме мишени к гену вируса, набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» содержит набор праймеров и зонд, предназначенный для обнаружения мишени внутреннего контроля экстракции (ВКО-ms2). Этот контрольный элемент представляет собой фрагмент РНК в белковой оболочке, не человеческого происхождения. Внутренний контроль ВКО-ms2 добавляется ко всем клиническим образцам для контроля проведения этапов экстракции нуклеиновых кислот (РНК), обратной транскрипции, а также ингибирования реакции. В состав набора реагентов также входит положительный контроль к мишени N (ПКО-В), который позволяет пользователю оценить, насколько успешно прошла реакция амплификации, и отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (К-).

Анализируемые образцы

Для проведения исследования с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» допустимо использование образцов/биологических проб пациента, таких как мазки из носоглотки, ротоглотки (горла), смешанные образцы, полученные из мазков из носоглотки и ротоглотки.

Количество реагентов, необходимое для проведения исследования

На одну реакцию ОТ-ПЦР расходуется 15 мкл Дипонента (DIL).
 В одну реакцию ОТ-ПЦР необходимо добавлять 10 мкл образца (выделенной из образцов пациентов РНК).

Подготовка анализируемых образцов для исследования

Сбор и хранение клинических образцов

Взятие, хранение и транспортирование анализируемых образцов осуществлять согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалами, содержащими микроорганизмы I-IV групп патогенности» и «Временным методическим рекомендациям по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCoV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)» утвержденным Главным государственным врачом Российской Федерации.

- 1.1. Для взятия, хранения и транспортировки образцов до проведения исследования, рекомендуется в качестве транспортной среды использовать стерильный физиологический раствор или специализированные транспортные среды с консервантом, совместимые с исследованиями методом ПЦР, а также зонды (тмпонны). Рекомендуемые изделия: «Зонд медицинский одноразовый стерильный по ТУ 32.50.13-002-28731857-2020», РУ №ПЗ 2021/13989 от 26.11.2021г., Система транспортная со средой для вирусов по ТУ 32.50.50-027-17547866-2020, РУ № ПЗ1 2020/9961 от 02.04.2020г.
- 1.2. Для взятия, хранения и транспортировки образцов используйте контейнеры с маркировкой «DNase/RNase free».
- 1.3. После взятия, образцы необходимо хранить в холодильнике при температурном режиме +2...+8 °C в течение короткого периода (не более 72 часов), при температуре -20°C - не более 4 месяцев; при температуре ниже -20°C - в течение более длительного времени (до 36 месяцев);
- 1.4. Не рекомендуется замораживание/оттаивание образцов более одного раза перед проведением тестирования.

Состав набора реагентов

Состав* набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 2

Наименование компонента в наборе реагентов	Объем в наборе реагентов (на 96 тестов), мкл	Кол-во, шт.	Описание
Reagent (DIL)	1600 (15 мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная бесцветная или бледно-розового цвета жидкость в пробирке 2,0 мл с синей крышечкой /цветовой маркировкой
Внутренний контрольный образец выделения и обратной транскрипции (ВКО-ms2)	1150 (10 мкл на 1 реакцию выделения РНК)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 2,0 мл с оранжевой крышечкой/цветовой маркировкой
Положительный контроль к мишени гена N (ПКО-В)	290 (10 мкл на 1 образец ПКО-В)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 0,5 мл с красной крышечкой/цветовой маркировкой
Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (К-)	1150 (10 мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 2,0 мл с прозрачной крышечкой/белой цветовой маркировкой
Инокулированная смесь в планшет/стриппированных пробирках для проведения ОТ-ПЦР-РВ реакции на 96 лунок/12x8 лунок (MEM)	-	1	Сухая смесь белого или полупрозрачного цвета на дне пробирок, герметично закрытых пленкой
Оптическая пленка для заклеивания ПЦР планшета/стрипов	-	2	Оптическая пленка для заклеивания ПЦР планшета стрипов
Инструкция по применению	-	1	Краткая инструкция по применению набора реагентов SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F ФОРМА 2

Набор реагентов не содержит компонентов и материалов животного и (или) человеческого происхождения

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» рассчитан на 96 определений, включая контрольные образцы. ФОРМА 2 подходит для проведения исследований с использованием ручных методов, а также адаптирован для автоматических станций для дозирования жидкостей.

Необходимое дополнительное оборудование, не входящее в состав набора реагентов

Приборы:

ПЦР-блок с УФ-лампой;
Амплификатор нуклеиновых кислот термостатический планшетного типа с детекцией сигнала (по каналам FAM/GREEN, HEX/JOE/R6G/Yellow/Cy3) в режиме реального времени;
Настольная центрифуга на 12000 об/мин (для этапа выделения РНК);
Центрифуга типа «Вортекс» на 1500 — 3000 об/мин;
Дозаторы переменного объема со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,5-10 мкл; 5-50 мкл; 20-200 мкл;
Холодильник медицинский, поддерживающий температурный режим от +2...+8°C;

Расходные материалы:

Одноразовые наконечники с фильтром (аэрозольным барьером) на 0,5-10 мкл; 5-50 мкл; 20-200 мкл;
Одноразовые полипропиленовые пробирки вместимостью 1,5 мл или 2,0 мл для приготовления амплификационной смеси;
Одноразовые средства защиты – медицинская шапочка одноразовая, медицинская защитная маска (класс N95 или FFP3), рабочая форма, медицинская защитная форма одноразовая, одноразовые латексные перчатки, защитные очки

Набор реагентов для выделения РНК:

Набор реагентов для выделения РНК из клинических образцов. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» совместим с большинством наборов для экстракции РНК или совместной экстракции ДНК/РНК на основе методов осаждения и сорбции на силикагеле или магнитных частицах, обеспечивающих выделение целостной РНК без примесей, ингибирующих реакцию обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ).

Внимание! Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» не совместим с экспресс-методиками выделения РНК.

Предупреждения и рекомендации при работе с набором реагентов

Рекомендации при работе с набором реагентов

Присылать набор реагентов строго по назначению, согласно данной инструкции;
При удалении пробирок, содержащих продукты ПЦР, недопустимо их открывать и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов;
Всегда использовать защитные перчатки, профессиональную одежду, защитные очки и т. д. При работе с образцами и реагентами для проведения исследований следить за тем, чтобы реагенты не попали на кожу, в глаза, и в дыхательные пути. При контакте с ними немедленно промыть большим количеством воды. Необходимо тщательно мыть руки после работы с образцами и реагентами;
При переносе клинического материала из пробирок, флаконов в новые использовать только отдельные одноразовые стерильные наконечники с аэрозольными барьерами;
Использовать расходные материалы (пластиковые пробирки и наконечники) только с маркировкой «DNase, RNase-free»;
Предотвращать возможную контаминацию реагентов, следуя стандартным процедурам, включая, использование средств индивидуальной защиты и разделение зон обработки образцов, экстракции нуклеиновых кислот и зон остановки ПЦР-РВ;
Положительный контроль к мишеням N (ПКО-В) может вызвать контаминацию, если с ним обращаться неосторожно. ПКО-В рекомендуется хранить отдельно от всех других реагентов и образцов;
Не смешивать разные серии реагентов;
Не использовать набор реагентов по истечении срока годности;
После работы обрабатывать поверхности 0,5% гипохлоритом натрия (отбеливателем), разбавленным деионизированной или дистиллированной водой.

Утилизация отходов

Серия (партия, LOT) наборов реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.
Уничтожение и утилизацию наборов реагентов следует проводить 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-противоэпидемиологических мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»:
• Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожают разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как производственных или бытовой мусор;
• Отходы биоматериала (инфицированные и потенциально инфицированные отходы) из клинико-диагностических лабораторий, работающих с микроорганизмами 1-4 групп патогенности, образцы материала после подготовки (выделение РНК) и отходы после проведения амплификации относятся к классу Б (эпидемиологически опасные отходы);
• Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию/обезвреживанию. Выбор метода обеззараживания/обезвреживания определяется возможностями организации, осуществляющей медицинскую деятельность, и в соответствии с разработкой схемы обращения с медицинскими отходами.

Проведение исследования

Выделение (экстракция) РНК

Внимание! Экстракция РНК из клинического материала проводится строго (!) в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для экстракции РНК.

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 2 совместим с большинством наборов для экстракции РНК или совместной экстракции ДНК/РНК на основе методов осаждения и сорбции на силикагеле или магнитных частицах, обеспечивающих выделение целостной РНК без примесей, ингибирующих реакцию обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ).

Внимание! Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 2 не совместим с экспресс-методиками выделения РНК.

Экстракция РНК из клинического материала проводится строго (!) в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО).

ВКО (входит в состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 2) – внутренний контроль экстракции РНК из клинических образцов. ВКО представляет собой искусственную РНК в белковой оболочке, которая контролирует, гарантирующая, что этапы выделения РНК из клинических образцов и реакция обратной транскрипции прошли успешно. ВКО добавляется к каждому образцу на этапе экстракции и проходит через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов.

В каждую постановку клинических образцов на этапе экстракции должны быть включены отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО-В) контроли этапа выделения РНК:

ОКО (не предоставляется в составе набора реагентов ФОРМА 2, приготовление см. ниже) – отрицательный контрольный образец выделения РНК. ОКО состоит из воды, свободной от нуклеаз или транспортной среды, предназначенной для взятия образцов. ОКО в качестве образца должен проходить через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для выделения РНК.

ПКО-В (входит в состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 2)

Положительный контрольный образец к мишеням гена N. ПКО-В представляет собой искусственную РНК в белковой оболочке, несущую фрагмент гена N вируса SARS-CoV-2. ПКО-В в качестве образца должен проходить через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для выделения РНК.

Приготовление образцов для этапа выделения РНК

Внимание! Перед использованием пробирки с ВКО, ПКО-В (входит в состав ФОРМА 2) необходимо перемешать на вортексе в течение нескольких секунд, затем сбросить капли краткосрочным центрифугированием.

Пробирки с ВКО ПКО-В должны храниться строго при температурном режиме +2...+8°C. Недопустимо замораживание ВКО и ПКО-В.

Подготовить образцы для этапа выделения РНК в соответствии с таблицей №1:

В каждую постановку клинических образцов, в каждую (!) пробирку с лизирующим раствором добавит: 10 мкл раствора ВКО;

Приготовление ОКО. ОКО не предоставляется в составе набора реагентов ФОРМА 2:

В пробирку, с лизирующим раствором и ВКО добавит:

V мкл воды, свободной от нуклеаз (или транспортной среды, предназначенной для взятия образцов), где V – объем клинического образца, рекомендуемый производителем набора для выделения РНК.

Промаркировать пробирку ОКО. Пробирка ОКО должна проходить все стадии выделения РНК в качестве контрольного образца.

Приготовление ПКО-В. Пробирка с раствором ПКО-В входит в состав ФОРМА 2:

В пробирку, с лизирующим раствором и ВКО добавит:

10 мкл раствора ПКО-В (входит в состав ФОРМА 2);

V мкл воды, свободной от нуклеаз (или транспортной среды, предназначенной для взятия образцов), где V – объем клинического образца, рекомендуемый производителем набора для выделения РНК.

Промаркировать пробирку ПКО-В. Пробирка ПКО-В должна проходить все стадии выделения РНК в качестве клинического образца.

№1. Подготовка образцов для проведения экстракции РНК.

	Состав	Комментарий
Клинические образцы	V мкл лизирующего раствора	V (объем лизирующего раствора) вносится в соответствии с используемым набором для выделения РНК.
	10 мкл ВКО	Пробирка с ВКО входит в состав набора реагентов
	V мкл ddH ₂ O	V (объем ddH ₂ O) соответствует объему клинического образца, рекомендуемому производителем набора для выделения РНК.
	V мкл лизирующего раствора	V (объем лизирующего раствора) вносится в соответствии с используемым набором для выделения РНК.
	10 мкл ВКО	Пробирка с ВКО входит в состав набора реагентов
	10 мкл ПКО-В	Пробирка с ПКО-В входит в состав набора реагентов
Контрольные образцы	V мкл ddH ₂ O	V (объем ddH ₂ O) соответствует объему клинического образца, рекомендуемому производителем набора для выделения РНК.
	V мкл лизирующего раствора	V (объем лизирующего раствора) вносится в соответствии с используемым набором для выделения РНК
	10 мкл ВКО	Пробирка с ВКО входит в состав набора реагентов
	V мкл клинического образца	V (объем клинического образца) вносится в соответствии с используемым набором для выделения РНК

14. Хранить выделенные образцы РНК в соответствии с рекомендациями производителя набора реагентов для выделения РНК. Не рекомендуется проводить более одного цикла замораживания-оттаивания образцов и экстрагированной РНК.

15. Перед проведением тестирования не перемешивайте образцы РНК на вортексе, так как это может привести к фрагментации РНК и повышению риска получения ложноотрицательных результатов исследования.

Подготовка компонентов ФОРМЫ 2 к проведению исследования.

После этапа экстракции РНК из клинических образцов, следует этап подготовки реакционной смеси для проведения совместной реакции обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ).

Все компоненты набора реагентов готовы к приготовлению реакционных смесей и не требуют дополнительного разведения. Перед использованием все компоненты реакционной смеси необходимо встряхнуть на вортексе и краткосрочным центрифугированием.

21. Компоненты набора реагентов, необходимые для постановки ОТ-ПЦР-РВ:

• смесь для амплификации лиофилизированная (MEM);

• ингибитор (DIL);

• отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (К-).

22. Образцы, необходимые для постановки ОТ-ПЦР-РВ:

• клинические образцы (РНК), после этапа выделения РНК;

• отрицательный контрольный образец (ОКО) этапа выделения РНК, после этапа выделения РНК;

• положительный контроль к мишеням гена N (ПКО-В), после этапа выделения РНК.

Приготовление реакционной смеси для проведения реакции ОТ-ПЦР-РВ.

11.3.1. Пробирки с компонентами набора реагентов (Diluent, ПКО-В, К-) перемешать на вортексе, сбросить капли краткосрочным центрифугированием.

каждой постановки ОТ-ПЦР-РВ необходимо включение трех контрольных реакций:

ОКО – отрицательный контроль этапа выделения РНК;

ПКО-В – положительный контроль к мишени гена N;

К – отрицательный контроль этапа ПЦР-РВ.

11.3.2. Планшет MEM содержит полностью готовую смесь для амплификации.

11.3.3. Приготовить необходимое количество стрипов MEM из расчета одна пробирка на один исследуемый образец РНК и три пробирки для контрольных образцов (ОКО, К-, ПКО-В). Образец схемы внесения образцов планшета (для 21 образца) представлен на рисунке 1а, для внесения образцов в стрипированные пробирки (для 5 образцов) представлен на рисунке 1б.

Рисунок 1а:

	1	2	3	4	5	6	7
ОКО		Образец №6	Образец №14				
К- (ddH ₂ O)		Образец №7	Образец №15				
ПКО-В		Образец №8	Образец №16				
Образец №1		Образец №9	Образец №17				
Образец №2		Образец №10	Образец №18				
Образец №3		Образец №11	Образец №19				
Образец №4		Образец №12	Образец №20				
Образец №5		Образец №13	Образец №21				

Рисунок 1б:

	2	3	4	5	6	7	8
ОКО	К- (ddH ₂ O)	ПКО-В	Образец №1	Образец №2	Образец №3	Образец №4	Образец №5

11.3.4. В каждую микропробирку или лунку планшета внести 15 мкл диспозита (DIL, входит в состав ФОРМА 2).

11.3.5. Внесение исследуемых образцов

Используя наконечники с аэрозольным барьером, последовательно внести в пробирки или планшет с амплификационной смесью исследуемые образцы согласно схеме (Рисунок 1а, 1б):

Образец	Объем (мкл)	Описание
ОКО	10	Контрольный образец ОКО, после этапа выделения РНК
ПКО-В	10	Контрольный образец ПКО-В (ген N), после этапа выделения РНК
К-	10	ddH ₂ O, входит в состав набора реагентов
РНК (образец №)	10	Клинические образцы (надосадочная жидкость соответствующего клинического образца), прошедшие этап выделения РНК

Внимание! ПКО-В содержит искусственную кДНК, несущую фрагмент гена N. Неосторожное обращение с ПКО-В может вызвать контаминацию. При внесении ПКО-В соблюдайте стандартные меры по предотвращению кросс-контаминации образцов. Храните ПКО-В отдельно от всех других реагентов и образцов.

11.3.6. После внесения образцов закройте прозрачной пленкой ПЦР планшет или стрипы. Убедитесь, что все лунки плотно прилегают к пленке. Кратко центрифугируйте (в течение 3-5 секунд) пробирки или ПЦР планшет и центрифугируйте перед постановкой в амплификатор.

Проведение ОТ-ПЦР-РВ

11.4.1. Перенести пробирки или планшет в амплификатор планшетного типа с детекцией результатов «в режиме реального времени» и провести амплификацию по следующей программе:

Температура	Время	Количество циклов
55°C	10 мин	1
94°C	3 мин	1
94°C	10 сек	5
58°C	20 сек	
94°C	10 сек	
58°C	20 сек (детекция сигнала по каналам FAM, HEX)	40

Внимание! Перед запуском программы амплификации убедитесь, что для всех используемых пробирок или лунок планшета заданы верные каналы детекции сигнала FAM/GREEN, HEX/JOE/R6G/Yellow/Cy3.

В первом этапе программы (55°C) проходит реакция обратной транскрипции (ОТ), в ходе которой на матрице РНК происходит синтез комплементарной ДНК (кДНК). Далее проходит реакция ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) в 45 циклов, происходит амплификация специфического участка кДНК вируса SARS-CoV-2 и мишени внутреннего контрольного образца ВКО-ms2, с одновременной флуоресцентной детекцией продуктов.

Обчет и интерпретация результатов

В продуктах амплификации «в режиме реального времени» осуществляется прибором автоматически в каждом цикле амплификации. На основании этих данных программное обеспечение амплификатора строит кривые флуоресцентного сигнала по каждому из заданных каналов. После окончания амплификации программное обеспечение прибора рассчитывает циклы пересечения кривых накопления флуоресцентного сигнала с автоматической линией пороговой линии (Ct). В случае неправильного автоматического выставления пороговой линии, рекомендуется выполнить это действие вручную. Пороговая линия должна находиться в диапазоне, где флуоресцентные положительные образцы параллельны друг другу (шкала флуоресценции должна отображаться в момент анализа в логарифмическом формате). Отсутствие значения для образца (значение N/A) означает, что пересечение кривой флуоресцентного сигнала с пороговой линией не наступило.

11.6.2. Мишени, детектируемые по каналам флуоресценции.

Канал	FAM/GREEN	HEX/JOE/R6G/Yellow/Cy3
Ген N (специфичный для SARS-CoV-2)		Внутренний контрольный образец (мишень ВКО)

Интерпретация результатов.

11.1. Интерпретация результатов исследования проводится в соответствии с таблицей №3:

11.3. Интерпретация результатов исследования.

	Ct FAM (ген N)	Ct HEX (мишень ms2)	Результат
ОКО	-	+ (Ct≤37)	Реакция прошла успешно, контаминация отсутствует
	+ (Ct≤37)	+/+	Проба контаминирована. Требуется повтор постановки после принятия антиконтаминационных мер. Необходимо повторить постановку с этапа выделения РНК.
К- (ddH ₂ O)	-	- (Ct>37)	Реакция не прошла. Нарушен этап выделения РНК или возможно наличие ингибиторов в образце. Требуется провести повторное выделение биоматериала
	+ (Ct≤37)	+/+	Реакция прошла успешно, контаминация отсутствует
	+/+	+ (Ct≤37)	Проба контаминирована. Возможна контаминация компонентов набора реагентов. Необходимо повторить постановку с этапа приготовления реакционных смесей.
ПКО-В	+ (Ct≤37)	+ (Ct≤37)	Реакция прошла успешно
	- (Ct>37)	+ (Ct≤37)	Реакция не прошла. Требуется перестановка с этапа ОТ-ПЦР-РВ. Убедитесь, что в реакционную смесь внесены правильные соотношения всех компонентов набора реагентов.
	- (Ct>37)	- (Ct>37)	Реакция не прошла. Требуется перестановка с этапа экстракции РНК. Убедитесь, что в реакционную смесь внесены правильные соотношения всех компонентов набора реагентов.
Исследуемые образцы	+ (Ct≤37)	+/-	Обнаружена РНК SARS-CoV-2
	- (Ct>37)	+ (Ct≤37)	Не обнаружена РНК SARS-CoV-2
Исследуемые образцы	- (Ct>37)	- (Ct>37)	Реакция не прошла. Нарушен этап выделения РНК или возможно наличие ингибиторов в образце. Требуется провести повторное выделение или взятие биоматериала (выполняется последовательно).

Контроль качества проведения исследований

Таблица контроля качества при успешной постановке образцов.

	Ct FAM (ген N)	Ct HEX (мишень ВКО)
ОКО	-	+ (Ct≤37)
К- (ddH ₂ O)	-	-
ПКО-В	+ (Ct≤37)	+ (Ct≤37)
Исследуемые образцы отрицательные	- (Ct>37)	+ (Ct≤37)
Исследуемые образцы положительные	+ (Ct≤37)	+/-

Условия хранения и транспортировки

Условия хранения.

11.1. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-IF» должен храниться при температурном режиме +2...+8°C в защищенном от света месте, в течение всего срока годности. Срок годности набора реагентов — 12 месяцев.

11.2. Срок хранения реагента MEM после удаления герметизирующей пленки составляет 24 часа.

11.3. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности и условия хранения вскрытых реагентов соответствуют сроку годности и условиям хранения, указанным на этикетках для не вскрытых реагентов.

Транспортирование

11.1. Допускается транспортировка набора реагентов при температуре +2+8 °C. Не замораживать.

11.2. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Порядок подачи рекламаций

Вопросы на специфические и физические свойства набора реагентов направлять в адрес предприятия-изготовителя: Общество с ограниченной ответственностью «Центр Инновационных Биотехнологий» (ООО «Аллея»), 123458, РФ, г. Москва, ул. Твардовского, дом 8, помещение V, комната 8 Тел. +7(495)780-92-96, lab@allea.tech.

- Амплификатор нуклеиновых кислот термочиклический с детекцией сигнала (по каналам FAM, HEX) в режиме реального времени («Амплификатор детектирующий "ДТпрайм" по ТУ 9443-004-96301278-2010 новых модификациях: 4M1, 4M3, 4M6, 5M1, 5M3, 5M6, 6M1, 6M3, 6M6, 4X1, 5X1, 6X1», производитель ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229;
- «Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, с принадлежностями исполнения: C1000, S1000, C1000 Touch» (CFX96 Touch qPCR System), производитель ООО "Био-Рад Лаборатории", США, РУ № ФСР 2008/03399);
- Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала "РИБО-прец" по ТУ 9398-071-01897593-2008, РУ № ФСР 2008/03147,
- Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009, РУ № ФСР 2010/08867,
- Набор реагентов для экстракции РНК из биологического материала "МагнэПрайм ФАСТ-Р" по ТУ 21.20.23-088-09286667-2020, РУ № РЗН 2020/12971.



и скреплено печатью

5 Листы

листов

Генеральный директор ООО «Алель»
Гамольский В.Л.

«28» апреля 2022 г. ^{подпись}



Генеральный директор
ООО «Аллерель»

Гамольский В.Л.

«28» апреля 2022г.



КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 по ТУ 21.20.23-002-83076696-2020.

Вариант исполнения:

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1

Производитель:

Общество с ограниченной ответственностью
«Аллерель Центр Инновационных Биотехнологий»

(Редакция 2)

КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 по ТУ 21.20.23-002-83076696-2020

1. Общая характеристика набора реагентов

наименование	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 по ТУ 21.20.23-002-83076696-2020
сокращенное наименование	Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F»
вариант исполнения	Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1
каталожный номер	AL-RT-6
срок годности набора реагентов	12 месяцев при соблюдении режима хранения
условия хранения	Хранение при температурном режиме +2...+8°C
диапазон обнаружения	Качественный
диагностические характеристики	Диагностическая чувствительность - 100 % (99,98 % – 100 % с доверительной вероятностью 95%) Диагностическая специфичность - 100 % (99,98 % – 100 % с доверительной вероятностью 95%) Предел обнаружения - 1000 копий нуклеиновой кислоты (РНК) коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца Инклюзивность не менее 99%
контрольные образцы	Внутренний контроль выделения РНК и реакции обратной транскрипции; Положительный контроль к мишени гена N; Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ
время проведения анализа	Не более 76 минут* (без учета времени экстракции РНК)
тип проведения анализа	Одностадийный
объем биологического материала для анализа (РНК)	10 мкл
количество определений	Набор рассчитан на 96 определений, включая контроли
готовность компонентов набора реагентов к использованию	Готов к применению. Компоненты набора реагентов не требуют дополнительного разведения.
упаковка	Жидкие компоненты набора реагентов, расфасованные в пробирки с закрывающейся крышечкой; планшет на 96 лунок или стриппированные пробирки 12x8 лунок и пленка для заклеивания планшета, вложенные в картонную коробку с логотипом.
информационная документация	Краткая инструкция по применению. Полная инструкция доступна на сайте производителя.

* программа амплификации для прибора Real-time CFX96 Touch (BIO-RAD)

Назначение

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 – это одностадийный тест на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ), предназначенный для качественного определения нуклеиновых кислот (РНК) вируса SARS-CoV-2 в биологических пробах пациента, таких как мазки из носоглотки, ротоглотки (горла), а также смешанные образцы, полученные из мазков из носоглотки и ротоглотки от лиц с подозрением на инфекцию COVID-19. Использование набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 рекомендуется для in vitro диагностики и проведения эпидемиологических исследований.

функциональное назначение: Прямой метод этиологической диагностики.

Принцип метода

Обнаружение вируса SARS-CoV-2 с помощью набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» счет экстракции нуклеиновых кислот (РНК) из клинических образцов верхних дыхательных путей с последующей амплификацией ПЦР в режиме реального времени, совмещенной с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ), с использованием ПЦР амплификаторов с детекцией флуоресцентного сигнала на каналах FAM и HEX. Гибридизационно-специфичная детекция позволяет проводить регистрацию продуктов амплификации в процессе прохождения реакции («в режиме реального времени»). Специфической мишенью в реакции ПЦР-РВ является ген N, специфичный для SARS-CoV-2.

Флуоресцентная детекция специфических мишеней проводится в реакционном растворе. Олигонуклеотидный зонд, несущий флуоресцентную метку, специфически гибридизуется с детектируемым участком к ДНК. В ходе амплификации нарастающая цепь ДНК ферментом ДНК-полимеразой, происходит разрушение зонда и высвобождение флуоресцентной метки в раствор, что делает возможным ее регистрацию на флуоресцентном детекторе. С помощью специально подобранных настроек амплификатора, анализирующая программа автоматически рассчитывает циклы пересечения кривых накопления флуоресцентного сигнала с пороговой линией – пороговый цикл (Ct).

С целью пропорционально концентрации к ДНК в образце. Кроме мишени к гену вируса, набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» содержит набор праймеров и зонд, предназначенный для обнаружения мишени внутреннего контроля экстракции (ВКО-ma2). Этот контрольный образец представляет собой фрагмент РНК в белковой оболочке, не человеческого происхождения. Внутренний контроль ВКО-ma2 добавляется ко всем клиническим образцам для контроля проведения этапов экстракции нуклеиновых кислот (РНК), обратной транскрипции, а также ингибирования реакции. В состав набора реагентов также входит положительный контроль к мишени N (ПКО-N), который позволяет пользователю оценить, насколько успешно прошла реакция амплификации, и отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (К-).

Анализируемые образцы

Для проведения исследования с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» допустимо использование образцов/биологических проб пациента, таких как мазки из носоглотки, ротоглотки (горла), смешанные образцы, полученные из мазков из носоглотки и ротоглотки.

Количество реагентов, необходимое для проведения исследования

на одну реакцию ОТ-ПЦР расходуется 14 мкл Mastermix (MM) и 1 мкл Enzyme mix (EM).
 на одну реакцию ОТ-ПЦР необходимо добавлять 10 мкл образца (выделенной из образцов пациентов РНК).

Подготовка анализируемых образцов для исследования

Взятие и хранение клинических образцов

Взятие, хранение и транспортирование анализируемых образцов осуществлять согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалами микроорганизмов I-IV групп патогенности» и «Временным методическим рекомендациям по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCoV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)». Основными Главным государственным врачом Российской Федерации.

- 1.1. Для взятия, хранения и транспортировки образцов до проведения исследования, рекомендуется в качестве транспортной среды использовать стерильный физиологический раствор или специализированные транспортные среды с консервантом, совместимые с исследуемыми методом ПЦР, а также зонды (тампоны). Рекомендуемые изделия: «Зонд медицинский одноразовый стерильный по ТУ 32.50.13-002-28731857-2020», РУ №РЗ 2021/13989 от 26.11.2021г., Система транспортная со средой для вирусов по ТУ 32.50.50-027-17547866-2020, РУ № РЗН 2020/9961 от 02.04.2020г.
- 1.2. Для взятия, хранения и транспортировки образцов используйте контейнеры с маркировкой «dNase/RNase free».
- 1.3. После взятия, образцы необходимо хранить в холодильнике при температурном режиме +2...+8 °C в течение короткого периода (не более 72 часов), при температуре -20°C - не более 4 месяцев; при температуре ниже -20°C - в течение более длительного времени (до 36 месяцев);
- 1.4. Не рекомендуется замораживание/оттаивание образцов более одного раза перед проведением тестирования.

Состав набора реагентов

Состав* набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1

наименование компонента в наборе реагентов	Объем в наборе реагентов (на 96 тестов), мкл	Кол-во, шт.	Описание
Mastermix (MM)	1500 (14 мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная жидкость бледно-розового цвета в пробирке 2,0 мл с синей крышечкой/цветовой маркировкой
Enzyme mix (EM)	105 (1 мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 0,5 мл с желтой крышечкой/цветовой маркировкой
Внутренний контрольный образец выделения и обратной транскрипции (ВКО)	1150 (10 мкл на 1 реакцию выделения РНК)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 2,0 мл с оранжевой крышечкой/цветовой маркировкой
Положительный контроль к мишени гена N (ПКО-N)	290 (10 мкл на 1 образец ПКО-N)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 0,5 мл с красной крышечкой/цветовой маркировкой
Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (К-)	1150 (10 мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 2,0 мл с прозрачной крышечкой/белой цветовой маркировкой
Планшет/стриппированные пробирки для проведения ОТ-ПЦР-РВ реакции на 96 лунок/12x8 лунок	-	1	Планшет / пробирки для проведения реакции ОТ-ПЦР-РВ
Оптическая пленка	-	2	Оптическая пленка для заклеивания ПЦР планшета / стрипов
Инструкция по применению	-	1	Краткая инструкция по применению набора реагентов SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F ФОРМА 1

* Набор реагентов не содержит консервантов и стабилизаторов для предотвращения роста микроорганизмов и факторов биологического происхождения

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-IF» рассчитан на 96 определений, включая контрольные образцы. ФОРМА 1 подходит для проведения исследований с использованием ручных методов, а также адаптированных открытых полуавтоматических и автоматических станций для дозирования жидкостей.

Необходимое дополнительное оборудование, не входящее в состав набора реагентов

Приборы:

- ПЦР-блок с УФ-лампой;
- Амплификатор нуклеиновых кислот термоциклический планшетного типа с детекцией сигнала (по каналам FAM/GREEN, HEX/JOE/R6G/Yellow/Cy3) в режиме реального времени;
- Настольная центрифуга на 12000 об/мин (для этапа выделения РНК);
- Центрифуга типа «Вортекс» на 1500 — 3000 об/мин;
- Дозаторы переменного объема со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,5-10 мкл; 5-50 мкл; 20-200 мкл;
- Холодильник медицинский, поддерживающий температурный режим от +2...+8°C;

Расходные материалы:

- Одноразовые наконечники с фильтром (аэрозольным барьером) на 0,5-10 мкл; 5-50 мкл; 20-200 мкл;
- Одноразовые полипропиленовые пробирки вместимостью 1,5 мл или 2,0 мл для приготовления амплификационной смеси;
- Одноразовые средства защиты - медицинская шапочка одноразовая, медицинская защитная маска (класс N95 или FFP3), рабочая форма, медицинская защитная форма одноразовая, одноразовые латексные перчатки, защитные очки.

Набор реагентов для выделения РНК:

Набор реагентов для выделения РНК из клинических образцов. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-IF» совместим с большинством наборов для экстракции РНК или совместной экстракции ДНК/РНК на основе методов осаждения и сорбции на силикагеле или магнитных частицах, обеспечивающих выделение целостной РНК без примесей, ингибирующих реакцию обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ).
Внимание! Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-IF» не совместим с экспресс-методиками выделения РНК.

Предупреждения и рекомендации при работе с набором реагентов

Рекомендации при работе с набором реагентов

- Применять набор реагентов строго по назначению, согласно данной инструкции;
- При удалении пробирок, содержащих продукты ПЦР, недопустимо их открывание и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов;
- Всегда использовать защитные перчатки, профессиональную одежду, защитные очки и т. д. При работе с образцами и реагентами для проведения исследований следить за тем, чтобы реагенты не попали на кожу, в глаза, на слизистые. При контакте с ними немедленно промыть большим количеством воды. Необходимо тщательно мыть руки после работы с образцами и реагентами;
- При переносе клинического материала из пробирок, флаконов в новые использовать только отдельные одноразовые стерильные наконечники с аэрозольным барьером;
- Использовать расходные материалы (пластиковые пробирки и наконечники) только с маркировкой «DNase, RNase-free»;
- Предотвращать возможную контаминацию реагентов, следуя стандартным процедурам, включая использование средств индивидуальной защиты и разделение зон обработки образцов, экстракции нуклеиновых кислот и зон постановки ПЦР-РВ;
- Положительный контроль к мишеням N (ПКО-В) может вызвать контаминацию, если с ним обращаться неосторожно. ПКО-В рекомендуется хранить отдельно от всех других реагентов и образцов;
- Не используйте набор реагентов, если упаковка повреждена или пробирка с реактивом протекает (имеется риск контаминации или снижения производительности, что может привести к неправильной оценке результатов);
- Не смешивать разные серии реагентов;
- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности;
- После работы обрабатывать поверхности 0,5% гипохлоритом натрия (отбеливателем), разбавленным деионизированной или дистиллированной водой.

Утилизация отходов

- Серии (партии, LOT) наборов реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.
- Уничтожение и утилизацию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным ресурсам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемиологических (эпидемиологических) мероприятий» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»:
- Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожают разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор;
- Отходы биоматериала (инфицированные и потенциально инфицированные отходы) из клинико-диагностических лабораторий, работающих с микроорганизмами 1-4 групп патогенности, образцы материала после изготовления (выделения РНК) и отходы после проведения амплификации относятся к классу Б (эпидемиологически опасные отходы);
- Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию/обезвреживанию. Выбор метода обеззараживания/обезвреживания определяется возможностями организации, осуществляющей медицинскую деятельность, и осуществляется при разработке схемы обращения с медицинскими отходами.

Проведение исследования

Выделение (экстракция) РНК

Внимание! Экстракция РНК из клинического материала проводится строго (!) в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для экстракции РНК.

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-IF» ФОРМА 1 совместим с большинством наборов для экстракции РНК или совместной экстракции ДНК/РНК на основе методов осаждения и сорбции на силикагеле или магнитных частицах, обеспечивающих выделение целостной РНК без примесей, ингибирующих реакцию обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ).

Внимание! Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-IF» ФОРМА 1 не совместим с экспресс-методиками выделения РНК.

- 1.1. Экстракция РНК из клинического материала проводится строго (!) в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО).
 - ВКО (входит в состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-IF» ФОРМА 1) – внутренний контроль экстракции РНК из клинических образцов. ВКО представляет собой искусственную РНК в белковой оболочке. Он служит контролем, гарантирующим, что этапы выделения РНК из клинических образцов и реакция обратной транскрипции прошли успешно. ВКО добавляется к каждому образцу на этапе экстракции и проходит через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов.
- 1.2. В каждую постановку клинических образцов на этапе экстракции должны быть включены отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО-В) контрольные образцы выделения РНК:
 - ОКО (не предоставляется в составе набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-IF» ФОРМА 1, приготовление см. ниже) - отрицательный контрольный образец выделения РНК. ОКО состоит из воды, свободной от нуклеаз или транспортной среды, предназначенной для взятия образцов. ОКО в качестве образца должен проходить через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для выделения РНК.
 - ПКО-В (входит в состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-IF» ФОРМА 1) - положительный контрольный образец к мишеням гена N. ПКО-В представляет собой искусственную РНК в белковой оболочке, несущую фрагмент гена N вируса SARS-CoV-2. ПКО-В в качестве образца должен проходить через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для выделения РНК.
- 1.3. Приготовление образцов для этапа выделения РНК

Внимание! Перед использованием пробирки с ВКО и ПКО-В (входят в состав ФОРМА 1) необходимо перемешать на вортексе в течение нескольких секунд, затем сбросить капли краткосрочным центрифугированием.

Внимание! Пробирки с ВКО и ПКО-В должны храниться строго при температурном режиме +2...+8°C. Недопустимо замораживание ВКО и ПКО-В.

Приготовить образцы для этапа выделения РНК в соответствии с таблицей №1;

При внесении клинических образцов, в каждую (!) пробирку с лизирующим раствором добавить: 10 мкл раствора ВКО;

Приготовить ОКО. ОКО не предоставляется в составе ФОРМА 1:

- В пробирку с лизирующим раствором и ВКО добавить:
 - V мкл воды, свободной от нуклеаз (или транспортной среды, предназначенной для взятия образцов), где V – объем клинического образца, рекомендуемый производителем набора для выделения РНК.
- Промаркировать пробирку ОКО. Пробирка ОКО должна проходить все стадии выделения РНК в качестве клинического образца.

Приготовление ПКО-В. Пробирка с раствором ПКО-В входит в состав ФОРМА 1:

- В пробирку с лизирующим раствором и ВКО добавить:
 - 10 мкл раствора ПКО-В (входит в состав ФОРМА 1);
 - V мкл воды, свободной от нуклеаз (или транспортной среды, предназначенной для взятия образцов), где V – объем клинического образца, рекомендуемый производителем набора для выделения РНК.
- Промаркировать пробирку ПКО-В. Пробирка ПКО-В должна проходить все стадии выделения РНК в качестве клинического образца.

№1. Подготовка образцов для проведения экстракции РНК

	Состав	Комментарий
ВКО	V мкл лизирующего раствора	V (объем лизирующего раствора) вносится в соответствии с используемым набором для выделения РНК.
	10 мкл ВКО	Пробирка с ВКО входит в состав набора реагентов
	V мкл ddH ₂ O	V (объем ddH ₂ O) соответствует объему клинического образца, рекомендуемому производителем набора для выделения РНК.
ПКО-В	V мкл лизирующего раствора	V (объем лизирующего раствора) вносится в соответствии с используемым набором для выделения РНК.
	10 мкл ВКО	Пробирка с ВКО входит в состав набора реагентов
	10 мкл ПКО-В	Пробирка с ПКО-В входит в состав набора реагентов
Клинические образцы	V мкл ddH ₂ O	V (объем ddH ₂ O) соответствует объему клинического образца, рекомендуемому производителем набора для выделения РНК.
	V мкл лизирующего раствора	V (объем лизирующего раствора) вносится в соответствии с используемым набором для выделения РНК
	10 мкл ВКО	Пробирка с ВКО входит в состав набора реагентов
	V мкл клинического образца	V (объем клинического образца) вносится в соответствии с используемым набором для выделения РНК

1.1.4. Хранить выделенные образцы РНК в соответствии с рекомендациями производителя набора реагентов для выделения РНК. Не рекомендуется проводить более одного цикла замораживания-оттаивания образцов и экстрагированной РНК.

1.1.5. Перед проведением тестирования не перемешивайте образцы РНК на вортексе, так как это может привести к фрагментации РНК и повышению риска получения ложноотрицательных результатов исследования.

Подготовка компонентов ФОРМА 1 к проведению исследования.

После этапа экстракции РНК из клинических образцов следует этап подготовки реакционной смеси для проведения совместной реакции обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ).

Все компоненты набора реагентов готовы к приготовлению реакционных смесей и не требуют дополнительного разведения. Перед использованием все компоненты реакционной смеси необходимо встряхнуть на вортексе и каплю краткосрочным центрифугированием.

1.2.1. Компоненты набора реагентов, необходимые для постановки ОТ-ПЦР-РВ:

Mastermix (MM);

Primer mix (EM);

Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (К-).

1.2.2. Образцы, необходимые для постановки ОТ-ПЦР-РВ:

Клинические образцы (РНК), после этапа выделения РНК;

Отрицательный контрольный образец (ОКО) этапа выделения РНК, после этапа выделения РНК;

Положительный контроль к мишеням гена N (ПКО-В), после этапа выделения РНК.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Приготовление реакционной смеси для проведения реакции ОТ-ПЦР-РВ.

3.1. Пробирки с компонентами набора реагентов (Master mix, Enzyme mix, ПКО-В, К-) перемешать на вортексе, сбросить капли краткосрочным центрифугированием.

3.2. Для постановки ОТ-ПЦР-РВ необходимо включение трех контрольных реакций:

ОК – отрицательный контроль этапа выделения РНК;

ОК-В – положительный контроль к мишени гена N;

К – отрицательный контроль этапа ПЦР-РВ.

3.3. Приготовить и промаркировать одноразовую полипропиленовую пробирку типа «Эпэндорф» вместимостью 1,5 мл или 2,0 мл для приготовления амплификационной смеси.

3.4. Приготовить амплификационную смесь, используя реагенты Mastermix, Enzyme mix в следующей пропорции (на 1 реакцию):

Реагент	Объем, мкл
Mastermix	14
Enzyme mix	1

3.5. Рекомендуется приготовить амплификационную смесь для (N+3+1) образцов, где

N – число клинических образцов;

3 – контрольных образцов (ОК, ОК-В, К-), входящие в каждую постановку ОТ-ПЦР-РВ;

1 – дополнительная реакция, для учета возможной неточности дозирования.

3.6. Приготовить микропробирки объемом 0,2 мл или использовать ПЦР планшет или стрипированные пробирки, включенные в ФОРМУ 1, из расчета одна пробирка на один исследуемый образец РНК и три пробирки для контрольных образцов (ОК, К-, ПКО-В). Образец схемы внесения образцов в планшет (для 21 образца) представлен на рисунке 1а, для внесения образцов в стрипированные пробирки (для 5 образцов) представлен на рисунке 1б.

1а:

1	2	3	4	5	6	7
ОК	Образец №6	Образец №14				
К- (ddH ₂ O)	Образец №7	Образец №15				
ПКО-В	Образец №8	Образец №16				
Образец №1	Образец №9	Образец №17				
Образец №2	Образец №10	Образец №18				
Образец №3	Образец №11	Образец №19				
Образец №4	Образец №12	Образец №20				
Образец №5	Образец №13	Образец №21				

1б:

2	3	4	5	6	7	8
К- (ddH ₂ O)	ПКО-В	Образец №1	Образец №2	Образец №3	Образец №4	Образец №5

3.4. В каждую микропробирку или лунку планшета внести 15 мкл приготовленной амплификационной смеси (п. 3.2.2.).

3.5. Внесение исследуемых образцов

Для наконечники с аэрозольным барьером, последовательно внести в пробирки или планшет с амплификационной смесью исследуемые образцы согласно схеме (Рисунок 1а, 1б):

Образец	Объем (мкл)	Описание
ОК	10	Контрольный образец ОК, после этапа выделения РНК
ПКО-В	10	Контрольный образец ПКО-В (ген N), после этапа выделения РНК
К-	10	ddH ₂ O, входит в состав набора
РНК (образец №)	10	Клинические образцы (надосадочная жидкость соответствующего клинического образца), прошедшие этап выделения РНК

3.6. ПКО-В содержит искусственную кДНК, несущую фрагмент гена N. Неосторожное обращение с ПКО-В может вызвать контаминацию. При внесении ПКО-В соблюдайте стандартные меры по предотвращению контаминации образцов. Храните ПКО-В отдельно от всех других реагентов и образцов.

3.6. После внесения образцов закройте прозрачной пленкой ПЦР планшет или стрипы. Убедитесь, что все лунки плотно прилегают к пленке. Кратко центрифугируйте (в течение 3-5 секунд) пробирки или ПЦР планшет на центрифуге перед постановкой в амплификатор.

Проведение ОТ-ПЦР-РВ

4.1. Перенести пробирки или планшет в амплификатор планшетного типа с детекцией результатов «в режиме реального времени» и провести амплификацию по следующей программе:

Программа амплификации

Температура	Время	Количество циклов
55°C	10 мин	1
94°C	3 мин	1
94°C	10 сек	5
58°C	20 сек	
94°C	10 сек	40
20 сек (детекция сигнала по каналам FAM, HEX)		

3.7. Перед запуском программы амплификации убедитесь, что для всех используемых пробирок или лунок планшета заданы верные каналы детекции сигнала FAM/GREEN, HEX/JOE/R6G/Yellow/Cy3.

В первом этапе программы (55°C) происходит реакция обратной транскрипции (ОТ), в ходе которой на матрице РНК происходит синтез комплементарной ДНК (кДНК). Далее происходит реакция ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) – 45 циклов, происходит амплификация специфического участка кДНК вируса SARS-CoV-2 и мишени внутреннего контрольного образца ВКО-ms2, с одновременной флуоресцентной детекцией продуктов.

Обсчет и интерпретация результатов

После завершения амплификации «в режиме реального времени» осуществляется прибором автоматический расчет в каждом цикле амплификации. На основании этих данных программное обеспечение амплификатора строит кривые флуоресцентного сигнала по каждому из заданных каналов. После окончания амплификации программное обеспечение прибора рассчитывает циклы пересечения кривых накопления флуоресцентного сигнала с автоматическим пороговой линией (Сt). В случае неправильного автоматического выставления пороговой линии, рекомендуется выполнить это действие вручную. Пороговая линия должна находиться в диапазоне, где флуоресцентный сигнал положительных образцов параллельно друг другу (шкала флуоресценции должна отображаться в момент анализа в логарифмическом формате). Отсутствие значения для образца (значение N/A) означает, что пересечения кривой флуоресцентного сигнала с пороговой линией не наступило.

Таблица №2. Мишени, детектируемые по каналам флуоресценции.

Канал	FAM/GREEN	HEX/JOE/R6G/Yellow/Cy3
Мишень	Ген N (специфичный для SARS-CoV-2)	Внутренний контрольный образец (мишень ВКО)

Интерпретация результатов.

4.1. Интерпретация результатов исследования проводится в соответствии с таблицей №3:

Таблица №3. Интерпретация результатов исследования.

	Ct FAM (ген N)	Ct HEX (мишень ms2)	Результат
ОК	-	+ (Ct≤37)	Реакция прошла успешно, контаминация отсутствует
	+ (Ct≤37)	+/-	Проба контаминирована. Требуется повтор постановки после принятия антиконтаминационных мер. Необходимо повторить постановку с этапа выделения РНК.
	-	- (Ct>37)	Реакция не прошла. Нарушен этап выделения РНК или возможно наличие ингибиторов в образце. Требуется провести повторное выделение биоматериала
ddH ₂ O	-	-	Реакция прошла успешно, контаминация отсутствует
	+ (Ct≤37)	+/-	Проба контаминирована. Возможно контаминация компонентов набора реагентов. Необходимо повторить постановку с этапа приготовления реакционных смесей.
	+/-	+ (Ct≤37)	
ОК-В	+ (Ct≤37)	+ (Ct≤37)	Реакция прошла успешно
	- (Ct>37)	+ (Ct≤37)	Реакция не прошла. Требуется перестановка с этапа ОТ-ПЦР-РВ. Убедитесь, что в реакционную смесь внесены правильные соотношения всех компонентов набора реагентов.
	- (Ct>37)	- (Ct>37)	Реакция не прошла. Требуется перестановка с этапа экстракции РНК. Убедитесь, что в реакционную смесь внесены правильные соотношения всех компонентов набора реагентов.
Исследуемые образцы отрицательные	+ (Ct≤37)	+/-	Обнаружена РНК SARS-CoV-2
	- (Ct>37)	+ (Ct≤37)	Не обнаружена РНК SARS-CoV-2
Исследуемые образцы положительные	- (Ct>37)	- (Ct>37)	Реакция не прошла. Нарушен этап выделения РНК или возможно наличие ингибиторов в образце. Требуется провести повторное выделение или взятие биоматериала (выполняется последовательно).

Контроль качества проведения исследований

4.2. Таблица контроля качества при успешной постановке образцов.

	Ct FAM (ген N)	Ct HEX (мишень ВКО)
ОК	-	+ (Ct≤37)
ddH ₂ O	-	-
ОК-В	+ (Ct≤37)	+ (Ct≤37)
Исследуемые образцы отрицательные	- (Ct>37)	+ (Ct≤37)
Исследуемые образцы положительные	+ (Ct≤37)	+/-

Условия хранения и транспортировки

Условия хранения.

4.3.1. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» должен храниться при температурном режиме +2...+8°C в защищенном от света месте в течение всего срока годности. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев.

4.3.2. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности и условия хранения вскрытых реагентов соответствуют сроку годности и условиям хранения, указанным на этикетках для невскрытых реагентов.

Транспортирование

4.3.1. Допускается транспортировка набора реагентов при температуре +2...+8 °С. Не замораживать.

4.3.2. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Порядок подачи рекламаций

4.4. Заявки на специфические и физические свойства набора реагентов направлять в адрес предприятия-изготовителя: Общество с ограниченной ответственностью

«Лаб-Цирми» (ООО «Цирми»), ОГРН 1175000000000, ИНН 5017045900, 127450, г. Москва, ул. Твардовского, дом 8, помещение V, комната 8, Тел. +7(495)780-92-96, lab@allel.tech.

ООО Цирми INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- Амплификатор нуклеиновых кислот термостатический с детекцией сигнала (по каналам FAM, HEX) в режиме реального времени («Амплификатор детектирующий "ДТпрайм" по ТУ 9443-004-96301278-2010 в различных модификациях: 4M1, 4M3, 4M6, 5M1, 5M3, 5M6, 6M1, 6M3, 6M6, 4X1, 5X1, 6X1»), производитель ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229;
- «Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, с принадлежностями исполнения: C1000, S1000, C1000 Touch» (CFX96 Touch qPCR System), производитель ООО "Бюо-Рад Лаборатории", США, РУ № 008/03399);
- Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала "РИБО-преп" по ТУ 9398-071-01897593-2008, РУ № ФСР 2008/03147,
- Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-Плюс) по ТУ 9398-035-46482062-2009, РУ № ФСР 2010/08867,
- Набор реагентов для экстракции РНК из биологического материала "МагноПрайм ФАСТ-Р" по ТУ 21.20.23-088-09286667-2020, РУ № РЗН 2020/12971.



Всего прошито, пронумеровано
и скреплено печатью

5 Безъ

листов

Генеральный директор ООО «Аллея»
Гамольский В.Л.

«28» апреля 2022 г. подпись



УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Аллель»

Гамольский В.Л.

«28» апреля 2022г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РНК КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2 МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ
ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ С ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИЕЙ «SARS-COV-2
RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2 ПО ТУ 21.20.23-002-83076696-2020

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ:

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
«АЛЛЕЛЬ ЦЕНТР ИННОВАЦИОННЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ»

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ AL-RT-6: IFU-001.

(РЕДАКЦИЯ 2)



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РНК КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2 МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ
ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ С ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИЕЙ
«SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2
по ТУ 21.20.23-002-83076696-2020**



Instruction for use

НОМЕР ПО КАТАЛОГУ  **AL-RT-6**

ТУ 21.20.23-002-83076696-2020



Для 96 исследований



Для *In vitro* диагностики



ООО «Аллель»

123458, г. Москва, ул. Твардовского,
Дом 8, помещение V, комната 8
Тел.: +7 (495) 780-92-96
e-mail: lab@allel.tech

СОДЕРЖАНИЕ

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	4
2. НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	24
3. ПРИНЦИП МЕТОДА	5
4. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	6
5. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	6
6. ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	7
7. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ	7
8. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ	7
9. СОСТАВ* НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	9
10. НЕОБХОДИМОЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ВХОДЯЩЕЕ В СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	10
11. ТРЕБОВАНИЯ К УПАКОВКЕ И МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	11
12. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	12
13. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ (ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ) ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	14
14. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И РЕКОМЕНДАЦИИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ «SARS-COV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 И ФОРМА 2	14
15. УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ	15
16. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	16
17. ОБСЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	18
18. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ	21
19. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	22
20. ПОРЯДОК ПОДАЧИ РЕКЛАМАЦИЙ	22
21. СПИСОК ОБОЗНАЧЕНИЙ	23
22. СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ	23
23. СТАНДАРТЫ СООТВЕТСТВИЯ	24

1. Общая характеристика набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

Полное наименование	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 по ТУ 21.20.23-002-83076696-2020
Сокращенные наименования	Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F»; «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2; ФОРМА 1, ФОРМА 2
Каталожный номер	AL-RT-6
Срок годности набора	12 месяцев при соблюдении режима хранения
Условия хранения	Хранение при температурном режиме +2...+8°C
Диапазон обнаружения	Качественный
Диагностические характеристики	Диагностическая чувствительность - 100 % (99,98 % – 100 % с доверительной вероятностью 95%) Диагностическая специфичность - 100 % (99,98 % - 100 % с доверительной вероятностью 95%) Предел обнаружения - 1000 копий нуклеиновой кислоты (РНК) коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца Инклюзивность не менее 99%
Тип анализируемого образца	Нуклеиновые кислоты (РНК) из клинических образцов верхних дыхательных путей (мазки из носоглотки, ротоглотки (горла), а также смешанные образцы, полученные из мазков из носоглотки и ротоглотки)
Контрольные образцы	Внутренний контроль выделения РНК и реакции обратной транскрипции; Положительный контроль к мишени гена N; Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ
Общее время проведения анализа	Не более 76 минут* (без учета времени экстракции РНК)
Схема проведения анализа	Одностадийный
Объем биологического материала для анализа (РНК)	10 мкл
Количество определений	Набор реагентов рассчитан на 96 определений, включая контроли
Готовность компонентов набора реагентов к использованию	Готов к применению. Компоненты набора реагентов не требуют дополнительного разведения.
Упаковка (ФОРМА 1)	Жидкие компоненты набора, расфасованные в пробирки с завинчивающейся крышкой; планшет на 96 лунок или стриппированные пробирки 12*8 лунок и пленка для заклеивания планшета, вложенные в картонную коробку с ложементом.
Упаковка (ФОРМА 2)	Жидкие компоненты набора, расфасованные в пробирки с завинчивающейся крышкой; лиофилизированный компонент в планшете на 96 лунок или в стриппированных пробирках 12*8 лунок и пленка для заклеивания планшета, вложенные в картонную коробку с ложементом.
Эксплуатационная документация	Краткая инструкция по применению ФОРМА 1 или ФОРМА 2. Инструкция по применению «Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2, доступна на сайте производителя.
Сведения о производителе	ООО «Алле́ль», 123458, г. Москва, ул. Твардовского, Дом 8, помещение V, комната 8

*время программы амплификации для прибора Real-time CFX96 Touch (BIO-RAD)

2. Назначение Набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 – это одностадийный тест на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ), предназначенный для качественного определения

нуклеиновых кислот (ПНК) вируса SARS-CoV-2 в биологических пробах пациента, таких как мазки из носоглотки, ротоглотки (горла), а также смешанные образцы, полученные из мазков из носоглотки и ротоглотки от лиц с подозрением на инфекцию COVID-19. Использование набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 рекомендуется для *in vitro* диагностики и проведения эпидемиологических исследований.

Функциональное назначение: Прямой метод этиологической диагностики.

ПНК SARS-CoV-2 обычно обнаруживается в респираторных образцах во время острой фазы инфекции. Положительные результаты указывают на присутствие ПНК SARS-CoV-2. Для определения статуса инфицирования необходима корреляция с клинической картиной пациента и другой диагностической информацией. Положительные результаты не исключают бактериальную инфекцию или сопутствующую инфекцию другими вирусами. Обнаруженный агент может не быть точной причиной заболевания.

Отрицательные результаты не исключают заражения SARS-CoV-2 и не должны использоваться в качестве единственной основы для постановки диагноза и принятия решений по ведению пациентов. Интерпретация результатов должна проводиться в совокупности с другими лабораторными показателями и диагностической информацией.

2.1. Актуальность проблемы

Широкое распространение новой коронавирусной инфекции COVID-19, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, поставило перед медицинским сообществом сложные задачи, связанные с быстрой и достоверной диагностикой и эффективным лечением пациентов. Коронавирусы - это покрытые оболочкой ПНК-вирусы, семейства *Coronaviridae* (коронавирусы), относящиеся к вирусам зоонозного происхождения. Они вызывают респираторные заболевания с симптомами различной степени тяжести, начиная с легкой простуды до более тяжелых форм, таких как тяжелый острый респираторный синдром (SARS), ближневосточный респираторный синдром (MERS) и Коронавирусная инфекция 2019 (COVID-19). Другие известные коронавирусы, инфицирующие человека, включают 229E, NL63, OC43 и HKU1. Последние распространены повсеместно, а инфекция обычно вызывает симптомы простуды или гриппа.

2.2. Методы диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19

В настоящее время во всем мире принимаются меры по предупреждению распространения инфекции COVID-19. Для этих целей выполняется выявление лиц как имеющих симптомы заболевания, так и бессимптомных пациентов с помощью лабораторных методов диагностики. Первоначально факт инфицирования SARS-CoV-2 может быть подтвержден выявлением ПНК возбудителя в биологических пробах пациента, таких как мазки из носоглотки, ротоглотки (горла), смешанные образцы, полученные из мазков из носоглотки и ротоглотки, носовые или носоглоточные аспираты, образцы бронхоальвеолярного лаважа, а также промывные воды бронхов и мокроты. ПНК SARS-CoV-2 может быть выявлена с первых дней после заражения и является достаточно чувствительным исследованием. Преимущественно применяются тест-системы формата ПЦР-РВ (ПЦР в реальном времени) и LAMP (петлевая изотермальная амплификация).

Методы на основе ПЦР являются методами прямого выявления ПНК вируса SARS-CoV-2 в клинических образцах, поэтому их можно отнести к наиболее чувствительным и достоверным исследованиям для диагностики инфекции. Однако ограничением методов диагностики на основе ПЦР является то, что персистенция вируса в тканях наблюдается короткое время. По результатам исследований, до 90% тестов на вирусную ПНК SARS-CoV-2 в мазках из носоглотки становятся отрицательными спустя 8-10 дней от появления симптомов, и, таким образом, ПЦР тест-системы могут давать ложноотрицательные результаты в более поздний период после заражения.

Серологические методы исследования на основе диагностики специфических антител (иммуноглобулинов) к вирусу SARS-CoV-2 являются методами непрямого диагностирования Коронавирусной инфекции. Методы определения сывороточных антител включают ИФА, хемилюминесцентный иммуноанализ, иммунохроматографию с коллоидным золотом и т.д. Специфические антитела IgG появляются в крови пациентов с SARS-CoV-2 уже через 12-14 дней после появления симптомов и могут быть обнаружены длительное время, при этом титр специфических антител IgG в фазе выздоровления примерно в 4 раза выше, чем в острой фазе. Серологические методы исследования могут быть использованы как дополнительные при диагностике Коронавирусной инфекции.

3. Принцип метода

Обнаружение вируса SARS-CoV-2 с помощью набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 достигается за счет экстракции нуклеиновых кислот (ПНК) из клинических образцов верхних дыхательных путей с последующей мультиплексной ПЦР в режиме реального времени, совмещенной с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ), с использованием ПЦР амплификаторов с детекцией флуоресцентного сигнала на каналах FAM и HEX. Гибридизационно-флуоресцентная детекция позволяет проводить регистрацию продуктов амплификации в процессе прохождения реакции («в режиме реального

времени»). Специфической мишенью в реакции ПЦР-РВ является ген N, специфичный для вируса SARS-CoV-2.

Флуоресцентная детекция специфических мишеней проводится в реакционном растворе. Олигонуклеотидный зонд, несущий флуоресцентную метку, специфически гибридизуется с детектируемым участком кДНК. В ходе последующего наращивания цепи ДНК ферментом ДНК-полимеразой, происходит разрушение зонда и высвобождение флуоресцентной метки в раствор, что делает возможным её регистрацию на флуоресцентном детекторе. С использованием специально подобранных настроек амплификатора, анализирующая программа автоматически рассчитывает циклы пересечения кривых накопления флуоресцентного сигнала с пороговой линией – пороговый цикл (Ct). Значение Ct обратно пропорционально концентрации кДНК в образце.

Кроме мишени к гену вируса, набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 содержит набор праймеров и зонд, предназначенный для обнаружения мишени внутреннего контроля экстракции (ВКО-ms2). Этот контроль экстракции представляет собой фрагмент РНК в белковой оболочке, не человеческого происхождения. Внутренний контроль ВКО-ms2 добавляется ко всем клиническим образцам для контроля проведения этапов экстракции нуклеиновых кислот (РНК), обратной транскрипции, а также ингибирования реакции. В состав набора реагентов также входит положительный контроль к мишени N (ПКО-В), который позволяет пользователю оценить, насколько успешно прошли все этапы анализа, и отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (К-).

3.1. Ограничения метода

3.1.1. Ложноотрицательные результаты могут возникнуть вследствие:

- Неправильного сбора образцов;
- Разрушения вирусной РНК во время транспортировки или хранения образцов;
- Наличия ингибиторов ОТ-ПЦР-РВ в образце;
- Мутации вируса SARS-CoV-2 на участке гибридизации праймеров (не известные или не учтенные на 18 июня 2021 года);
- Несоблюдения инструкций по применению набора реагентов;
- Несоблюдения условий хранения набора реагентов;
- Воздействия вакцин, химиотерапевтических препаратов, иммунодепрессантов или других веществ, кроме описанных в п. 12.4, не оценивалось при разработке набора.

3.1.2. Ложноположительные результаты могут возникнуть вследствие:

- Перекрестного загрязнения образцов в случае нарушения технологии пробоподготовки;
- Перекрестного загрязнения между образцами пациентов в случае нарушения технологии проведения исследования;
- Загрязнения проб и реагентов положительным контролем (ПКО-В), в случае нарушения технологии работы с набором реагентов.

3.1.3. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 не совместим с экспресс-методиками выделения РНК.

4. Область применения набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 предназначен для использования в клинической лабораторной диагностике. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 используется для качественного выявления нуклеиновых кислот (РНК) коронавируса SARS-CoV-2 у всех лиц без ограничения пола и возраста с симптомами ОРВИ или без. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 предназначен исключительно для профессионального использования. Только для диагностики *in vitro*. Для медицинских организаций независимо от организационно-правовой формы.

5. Потенциальные пользователи Набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

Для выполнения анализа с использованием данного набора реагентов необходимо участие специалистов не моложе 18 лет с высшим или средним медицинским, биологическим или иным образованием, не имеющих медицинских противопоказаний к вакцинации, лечению специфическими препаратами и к работе в средствах индивидуальной защиты. Сотрудники должны иметь соответствующую профессиональную подготовку в области молекулярно-биологических методов и методов безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I-IV групп патогенности.

6. Показания и противопоказания к применению Набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

Показания к применению. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 используется для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 у лиц с симптомами ОРВИ и/или контактировавшими с заболевшим COVID-19, а также у лиц без признаков ОРВИ в очагах инфекции и/или в условиях распространения инфекции, с целью раннего выявления коронавируса SARS-CoV-2 для предотвращения дальнейшего распространения инфекции. Противопоказаний и побочных эффектов при работе с набором «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 не выявлено. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 предназначен только для однократного применения по назначению.

7. Анализируемые образцы

Для проведения исследования с использованием Набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 допустимо использование образцов/биологических проб пациента, таких как мазки из носоглотки, ротоглотки (горла) а также смешанные образцы, полученные из мазков из носоглотки и ротоглотки.

8. Подготовка анализируемых образцов для исследования

8.1. Сбор и хранение клинических образцов

Взятие, хранение и транспортирование анализируемых образцов 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» и «Временным методическим рекомендациям по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCoV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)», утвержденными Главным государственным врачом Российской Федерации.

8.1.1. Рекомендации по взятию мазков из полости носа. Отделяемое из полости носа следует забирать сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе. Тампон ввести легким движением по наружной стенке носа на глубину 2-3 см до нижней раковины. Затем тампон слегка опустить книзу, ввести в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, сделать вращательное движение и удалить вдоль наружной стенки носа. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) поместить в стерильную одноразовую пробирку объемом 2 мл с транспортной средой. Тщательно сполоснуть тампон в транспортной среде и отрезать верхнюю часть зонда. Пробирку с ватным тампоном плотно закрыть крышкой, не допуская зазора между крышкой и пробиркой, и промаркировать.

8.1.2. Рекомендации по взятию мазков из ротоглотки. Материал из зева (задней стенки ротоглотки) рекомендуется брать натошак или через 2 часа после приема пищи, сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе. Корень языка придавить шпателем и вращательными движениями забрать материал со стенок зева, слегка нажимая на них тампоном. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) поместить в стерильную одноразовую пробирку на 2 мл с транспортной средой. Тщательно сполоснуть тампон в транспортной среде и отрезать верхнюю часть зонда. Пробирку с ватным тампоном плотно закрыть крышкой, не допуская зазора между крышкой и пробиркой, и промаркировать.

8.1.3. Рекомендации по получению смешанных образцов, полученных из мазков из носоглотки и ротоглотки. Отдельными ватными тампонами взять мазки из носоглотки и ротоглотки. Рабочую часть обоих зондов с ватным тампоном поместить в одну пробирку для увеличения вирусной нагрузки. Тщательно сполоснуть тампоны в транспортной среде, отрезать верхнюю часть зондов. Пробирку с ватными тампонами плотно закрыть крышкой, не допуская зазора между крышкой и пробиркой, и промаркировать.

8.1.4. Для взятия, хранения и транспортировки образцов до проведения исследования, рекомендуется в качестве транспортной среды использовать стерильный физиологический раствор или специализированные транспортные среды с консервантом, совместимые с исследованиями методом ПЦР, а также зонды (тампоны). Рекомендуемые изделия: «Зонд медицинский одноразовый стерильный по ТУ 32.50.13-002-28731857-2020», РУ №РЗН 2021/13989 от 26.11.2021г., Система транспортная со средой для вирусов по ТУ 32.50.50-027-17547866-2020, РУ № РЗН 2020/9961 от 02.04.2020г.

8.1.5. Для взятия, хранения и транспортировки образцов используйте контейнеры с маркировкой «DNase/RNase free».

8.1.6. После взятия образцы необходимо хранить в холодильнике при температурном режиме +2...+8 °С в течение короткого периода (не более 72 часов), при температуре -20°С - не более 4 месяцев; при температуре ниже -20°С - в течение более длительного времени (до 36 месяцев);

8.1.7. Не рекомендуется замораживание/оттаивание образцов более одного раза перед проведением тестирования.

8.2. Выделение РНК из клинических образцов

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 совместим с большинством наборов для экстракции РНК или совместной экстракции ДНК/РНК на основе методов осаждения и сорбции на силикагеле или магнитных частицах, обеспечивающих выделение целостной РНК без примесей, ингибирующих реакцию обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ). Выделение РНК выполняется в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для выделения РНК.

8.2.1. Экстракция РНК из клинического материала *проводится строго (!)* в присутствии внутреннего контрольного образца (ВКО-ms2).

- **ВКО-ms2** (входит в состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2) – внутренний контроль экстракции РНК из клинических образцов. ВКО-ms2 состоит из фрагмента РНК в белковой оболочке. Он служит контролем, гарантирующим, что этапы выделения РНК из клинических образцов и реакция обратной транскрипции прошли успешно. ВКО-ms2 добавляется к каждому образцу на этапе экстракции и проходит через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов.

8.2.2. В каждую постановку клинических образцов на этапе экстракции должны быть включены отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО-В) контрольные образцы этапа выделения РНК:

- **ОКО** (не предоставляется в составе набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2) - отрицательный контрольный образец выделения РНК. ОКО состоит из воды, свободной от нуклеаз, или транспортной среды, предназначенной для взятия образцов. ОКО в качестве образца должен проходить через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для выделения РНК;

- **ПКО-В** (предоставляется в составе набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2) - положительный контрольный образец к мишени гена N вируса SARS-CoV-2. ПКО-В представляет собой искусственную РНК в белковой оболочке, несущую фрагмент гена N вируса SARS-CoV-2. ПКО-В в качестве образца должен проходить через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для выделения РНК.

Внимание! Внутренний контроль ВКО-ms2 и положительный контроль ПКО-В должны храниться строго при температурном режиме +2...+8°C. Недопустимо замораживание ВКО-ms2 и ПКО-В.

8.2.3. Приготовление контрольных образцов этапа выделения РНК

Перед приготовлением образцов к выделению РНК пробирку с ВКО-ms2 (входит в состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2) следует перемешать на вортексе в течение нескольких секунд, затем сбросить капли краткосрочным центрифугированием.

Условные обозначения:

V – объем клинического образца, рекомендуемый производителем набора реагентов для выделения РНК;

Среда – транспортная среда, предназначенная для хранения образцов, или вода, свободная от нуклеаз.

Перед внесением клинических образцов в каждую пробирку с лизирующим раствором, включая пробирки для ОКО и ПКО-В, следует добавить:

10 мкл раствора ВКО.

Приготовление ОКО.

В пробирку, соответствующую образцу ОКО, добавить:

V мкл среды.

Промаркировать пробирку ОКО. Пробирка ОКО должна проходить все стадии выделения РНК, которые проходят клинические образцы;

Приготовление ПКО-В.

В пробирку, соответствующую образцу ПКО-В, добавить:

10 мкл раствора ПКО-В (входит в состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2);

V мкл среды.

Промаркировать пробирку ПКО-В. Пробирка ПКО-В должна проходить все стадии выделения РНК, которые проходят клинические образцы.

8.2.4. Хранить выделенные образцы РНК в соответствии с рекомендациями производителя набора реагентов

для выделения РНК. Не рекомендуется проводить более одного цикла замораживания-оттаивания образцов и экстрагированной РНК.

8.2.5. Перед проведением тестирования не рекомендуется перемешивать образцы РНК на вортексе, так как это может привести к фрагментации РНК и повышению риска получения ложноотрицательных результатов исследования.

9. Состав* набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

9.1. Состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1

Наименование компонента в наборе реагентов	Объем в наборе реагентов (на 96 тестов), мкл	Кол-во, шт.	Описание
Mastermix (MM)	1500 (14 мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная жидкость бледно-розового цвета в пробирке 2,0 мл с синей крышкой /цветовой маркировкой
Enzyme mix (EM)	105 (1мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 0,5 мл с желтой крышкой/цветовой маркировкой
Внутренний контрольный образец выделения и обратной транскрипции (ВКО-ms2), концентрация: 150 000 копий геном-эквивалентов в 1 мл	1150 (10 мкл на 1 реакцию выделения РНК)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 2,0 мл с оранжевой крышкой/цветовой маркировкой
Положительный контроль к мишени гена N (ПКО-В), концентрация: 150 000 копий геном-эквивалентов в 1 мл	290 (10 мкл на 1 образец ПКО-В)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 0,5 мл с красной крышкой/цветовой маркировкой
Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (К-)	1150 (10 мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 2,0 мл с прозрачной крышкой/белой цветовой маркировкой
Планшет/стриппированные пробирки для проведения ОТ-ПЦР-РВ реакции на 96 лунок/12x8 лунок	-	1	Планшет / пробирки для проведения реакции ОТ-ПЦР-РВ
Оптическая пленка для заклеивания ПЦР планшет/стрипов	-	2	Оптическая пленка для заклеивания ПЦР планшета / стрипов
Краткая инструкция по применению	-	1	Краткая инструкция по применению набора реагентов SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F ФОРМА 1

9.2. Состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 2

Наименование компонента в наборе реагентов	Объем в наборе реагентов (на 96 тестов), мкл	Кол-во, шт.	Описание
Diluent (DIL)	1600 (15 мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная бесцветная или бледно-розового цвета жидкость в пробирке 2,0 мл с синей крышкой /цветовой маркировкой
Внутренний контрольный образец выделения и обратной транскрипции (ВКО-ms2), концентрация: 150 000 копий геном-эквивалентов в 1 мл	1150 (10 мкл на 1 реакцию выделения РНК)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 2,0 мл с оранжевой крышкой/цветовой маркировкой
Положительный контроль к мишени гена N (ПКО-В), концентрация: 150 000 копий геном-эквивалентов в 1 мл	290 (10 мкл на 1 образец ПКО-В)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 0,5 мл с красной крышкой/цветовой маркировкой
Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (К-)	1150 (10 мкл на 1 ПЦР реакцию)	1	Прозрачная бесцветная жидкость в пробирке 2,0 мл с прозрачной крышкой/белой цветовой маркировкой
Лиофилизированная смесь в планшете/стриппированных пробирках для проведения ОТ-ПЦР-РВ реакции на 96 лунок/12x8 лунок (MEM)	-	1	Сухая смесь белого или полупрозрачного цвета на дне пробирок, герметично заклеенных пленкой
Оптическая пленка для заклеивания ПЦР планшет/стрипов	-	2	Оптическая пленка для заклеивания ПЦР планшета/ стрипов

Краткая инструкция по применению	-	1	Краткая инструкция по применению набора реагентов SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F ФОРМА 1
----------------------------------	---	---	---

* Набор реагентов не содержит компонентов и материалов животного и (или) человеческого происхождения. Метрологическая прослеживаемость компонентов «ВКО-ms2» и «ПКО-В» определена в соответствии ГОСТ ISO 17511-2011.

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 рассчитан на 96 определений, включая контрольные образцы. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 подходит для проведения исследований с использованием ручных методик, а также адаптирован для открытых полуавтоматических и автоматических станций для дозирования жидкостей.

9.3. В состав набора реагентов входит:

ФОРМА 1

- Enzyme mix - смесь ферментов обратной транскриптазы MMLV и Taq полимеразы. Использование Enzyme mix позволяет совместить реакцию обратной транскрипции (получение кДНК) и мультиплексную ПЦР в реальном времени в одной пробирке и проводить процесс в одну стадию;

- Mastermix - смесь праймеров и зондов в буферном растворе. Система праймеров и зондов предназначена для определения целевой последовательности (мишени) коронавируса SARS-CoV-2 (гена N) и специфической последовательности для ВКО-ms2 - внутреннего контроля выделения РНК и реакции обратной транскрипции;

ФОРМА 2

- MEM – лиофилизированная смесь для амплификации, включающая в себя смесь ферментов обратной транскриптазы MMLV и Taq полимеразы, а также смесь праймеров и зондов в буферном растворе. Использование MEM позволяет совместить реакцию обратной транскрипции (получение кДНК) и мультиплексную ПЦР в реальном времени в одной пробирке и проводить процесс в одну стадию. Система праймеров и зондов предназначена для определения целевой последовательности (мишени) коронавируса SARS-CoV-2 (гена N) и специфической последовательности для ВКО-ms2 - внутреннего контроля выделения РНК и реакции обратной транскрипции;

- DIL – дилуент, включает в себя состав для растворения лиофилизованной формы MEM. Использование дилуента позволяет привести лиофилизированную смесь MEM в готовую для работы форму.

«SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

- ВКО-ms2 – Внутренний контрольный образец представляет собой РНК в белковой оболочке, который проходит все стадии анализа вместе с клиническими образцами, и служит для контроля проведения этапа выделения РНК, прохождения реакций ОТ-ПЦР и ПЦР-РВ. Использование внутреннего контрольного образца ВКО-ms2 позволяет снизить вероятность получения ложноотрицательных результатов исследования.

- ПКО-В – Положительный контрольный образец для мишени гена N коронавируса SARS-CoV-2. Положительный контрольный образец ПКО-В представляет собой искусственную РНК в белковой оболочке, несущую фрагмент гена N коронавируса SARS-CoV-2. ПКО-В служит для контроля успешного проведения этапа выделения РНК, прохождения реакций ОТ-ПЦР и ПЦР-РВ.

- К- – Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ (деионизованная вода) – используется в качестве отрицательного контроля (К-) на этапе постановки амплификации ПЦР-РВ. К- позволяет снизить вероятность получения ложноположительных результатов исследования.

В составе реакционной смеси (MM, MEM) используются олигонуклеотидные зонды:

Канал детекции	FAM/GREEN	HEX/JOE/R6G/Yellow/Cy3
Мишень	Ген N	Мишень ВКО-Ms2
Специфичность мишени	Специфичен к SARS-CoV-2	Внутренний контрольный образец

- Мишень в гене N высоко специфична для коронавируса SARS-CoV-2;
- Мишень ВКО-ms2 является внутренним контролем этапа выделения РНК из каждого клинического образца. Внутренний контроль нужен для определения наличия в клиническом образце РНК, для контроля проведения ОТ-ПЦР, а также для определения отсутствия ингибирования реакции ОТ-ПЦР.

10. Необходимое дополнительное оборудование, не входящее в состав набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

10.1. Приборы:

- ПЦР-бокс с УФ-лампой;

- Амплификатор* нуклеиновых кислот термоциклический с детекцией сигнала (по каналам FAM, HEX) в режиме реального времени («Амплификатор детектирующий "ДТпрайм" по ТУ 9443-004-96301278-2010 в следующих модификациях: 4M1, 4M3, 4M6, 5M1, 5M3, 5M6, 6M1, 6M3, 6M6, 4X1, 5X1, 6X1», производитель ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229;
- Термоциклер* для амплификации нуклеиновых кислот 1000, с принадлежностями исполнения: C1000, S1000, C1000 Touch» (CFX96 Touch qPCR System), производитель ООО "Био-Рад Лаборатории", США, РУ № ФСЗ 2008/03399);
- Настольная центрифуга на 12000 об/мин (для этапа выделения РНК);
- Центрифуга типа «Вортекс» на 1500 — 3000 об/мин;
- Дозаторы переменного объема со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,5-10 мкл; 5-50 мкл; 20-200 мкл;
- Холодильник медицинский, поддерживающий температурный режим +2...+8°C;

Примечание:

**Валидировано в ходе клинических испытаний.*

10.2. Расходные материалы:

- Одноразовые наконечники с фильтром (аэрозольным барьером) объемами 0,5-10 мкл; 5-50 мкл; 20-200 мкл;
- Одноразовые полипропиленовые пробирки вместимостью 1,5 мл или 2,0 мл для приготовления амплификационной смеси;
- Одноразовые средства защиты - медицинская шапочка одноразовая, медицинская защитная маска (класс N95 или FFP3), рабочая форма, медицинская защитная форма одноразовая, одноразовые латексные перчатки, защитные очки.

10.3. Набор реагентов для выделения РНК:

ФОРМА 2 совместима с наборами для экстракции РНК или совместной экстракции ДНК/РНК на основе методов осаждения и сорбции на силикагеле или магнитных частицах, обеспечивающих выделение целостной РНК без примесей, ингибирующих реакцию обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ):

- Комплект реагентов* для выделения РНК/ДНК из клинического материала "РИБО-преп" по ТУ 9398-071-01897593-2008, РУ № ФСР 2008/03147,
- Комплект реагентов* для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009, РУ № ФСР 2010/08867,
- Набор реагентов* для экстракции РНК из биологического материала "МагноПрайм ФАСТ-Р" по ТУ 21.20.23-088-09286667-2020, РУ № РЗН 2020/12971.
- Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала «НК-сорбент для диагностики in vitro, вариант исполнения I. НК-сорбент «Base», РУ № РЗН 2019/9331, производитель ООО НПФ «Литех»;
- Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала МагноПрайм ФАСТ-Р, РУ № РЗН 2020/12971, ООО "НекстБио".

Примечание:

**Валидировано в ходе клинических испытаний.*

Внимание! Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 не совместим с экспресс-методиками выделения РНК.

11. Требования к упаковке и маркировке набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

11.1. Упаковка

- ФОРМА 1 - жидкие компоненты набора реагентов, расфасованные в пробирки с закручивающейся крышкой вместимостью 2 мл и 0,5 мл, планшет на 96 лунок или стриппированные пробирки 12*8 лунок, оптическая пленка для заклеивания планшета;
- ФОРМА 2 - жидкие компоненты набора реагентов, расфасованные в пробирки с закручивающейся крышкой вместимостью 2 мл и 0,5 мл, лиофилизированный компонент в планшете на 96 лунок или стриппированных пробирках 12*8 лунок, оптическая пленка для заклеивания планшета;
- Компоненты набора реагентов и инструкция по применению упакованы в картонную коробку с вкладышем (ложементом) из картона;
- Внешняя и внутренняя упаковка набора реагентов должна быть целостной, без деформаций. При переворачивании пробирок с закручивающейся крышкой не должно наблюдаться протечек.

11.2. Маркировка

- Графическое оформление пробирок с реагентами или коробки соответствует ГОСТ Р 51088-2013 и ГОСТ Р ИСО18113-2-2015;
- На каждую пробирку с компонентом набора реагентов, планшет или стриппированные пробирки с лиофилизированным компонентом (для Формы 2) наклеена черно-белая или многоцветная самоклеящаяся этикетка, с указанием: сокращенного наименования предприятия-изготовителя, сокращенного наименования набора реагентов, сокращенного наименования реагента, объема реагента (для жидких реагентов), номера серии (партии, LOT) набора реагентов, срока годности (годен до) и условий хранения, предупредительной надписи: «Только для диагностики *in vitro*»;
- На пробирках с Mastermix (MM), Enzyme mix (EM), Diluent (DIL), внутренним контрольным образцом выделения и обратной транскрипции (ВКО-ms2), положительным контрольным образцом ОТ-ПЦР-РВ (ПКО-В), отрицательным контрольным образцом ПЦР-РВ (К-) указано торговое наименование набора реагентов;
- На каждом наборе реагентов (коробке) или на этикетке, наклеенной на каждый набор (коробку), нанесена маркировка с указанием в соответствии с ГОСТ Р 51088-2013; наименования предприятия-изготовителя, юридического адреса, телефона, адреса электронной почты, ссылки на сайт производителя в виде QR-кода, полного и сокращенного наименования набора реагентов, состава набора реагентов (наименование компонентов, количество, объем), каталожный номер набора реагентов, количества определений, на которое рассчитан набор реагентов (включая контрольные образцы), номера серии (партии, LOT) набора реагентов, срока годности (годен до) и условий хранения, предупредительных надписей «Только для диагностики *in vitro*», «Обратитесь к инструкции по применению», «Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению», «Верх», ссылки на скачивание полной версии инструкции к набору, на сайте производителя в виде QR-кода, регистрационного номера, номера технических условий.

12. Аналитические характеристики набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

12.1. Аналитическая чувствительность: предел обнаружения (LOD)

Аналитическая чувствительность (предел обнаружения) набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 составляет 1000 копий нуклеиновой кислоты (PHK) коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца.

Аналитическая чувствительность (LOD) была установлена, как самая низкая концентрация PHK SARS-CoV-2 (копий генома/мл) в образце, которые можно обнаружить с помощью набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 как минимум в 95% случаев.

Аналитическая чувствительность набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 была определена с использованием серийных разведений вирусной геномной PHK (Twist Bioscience, Cat. № 102019), добавленных к отрицательным клиническим мазкам из носоглотки. Определение производилось тестированием по четырем концентрациям (5000, 2500, 1000, 500 копий генома SARS-CoV-2/мл) с пятью повторами на каждую концентрацию.

Для двух самых низких концентраций со 100%-ной частотой обнаружения (2500 копий и 1000 копий генома SARS-CoV-2/мл) было проведено дополнительное подтверждение, тестированием трех образцов в двадцати повторях, наряду с более низкой концентрацией, чтобы продемонстрировать процент совпадений ниже 95%.

Самая низкая концентрация со 95% -ной частотой детектирования (1000 копий генома SARS-CoV-2/мл) была определена как предел обнаружения (LoD) для набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2.

12.2. Аналитическая специфичность: Инклюзивность

Аналитическая специфичность определяется олигонуклеотидными затравками (праймерами), подобранными к высококонсервативному участку генома вируса SARS-CoV-2 – гену N, а также специфичным флуоресцентным олигонуклеотидным зондом для гибридизации с комплементарными участками специфичных ампликонов (специфических продуктов амплификации).

Оценка специфичности праймеров и зонда для мишени гена N проводилась *in silico* по 14989 полных нуклеотидных последовательностей, кодирующих нуклеокапсидный белок коронавируса SARS-CoV-2, присутствующих в GenBank по состоянию на июнь 2021 года (taxid: 2697049, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sars-cov-2/>). Учитывались данные секвенирования геномов вируса SARS-CoV-2, отобранного у пациентов в странах: Китай, Индия, Россия, Франция, Германия, США, Мексика, Австралия, Бразилия, Великобритания и др., в том числе включая т.н. «бразильский», «британский», «индийский» и «южноафриканский» штаммы. Результат выравнивания праймеров и зонда на указанные последовательности геномов вируса SARS-CoV-2 продемонстрировал 99,5% гомологию и отсутствие известных частых мутаций на участках гибридизации праймеров для всех штаммов SARS-CoV-2.

12.3. Аналитическая специфичность: Перекрестная реактивность

Аналитическая специфичность набора реагентов – это способность выявлять только РНК указанных вирусов (SARS-CoV-2), вне зависимости от присутствия в анализируемом образце НК других возбудителей.

- Перекрестная реактивность с другими коронавирусами

Были протестированы супернатанты клеточных культур, содержащие коронавирусы человека (HCoV) -229E, -NL63, -OC43 и -HKU1, а также MERS-CoV и SARS-CoV. Концентрация РНК вируса во всех образцах определялась с помощью ОТ-ПЦР-РВ и стандартов РНК, разработанных для определения абсолютной вирусной нагрузки и составляла 10^5 - 10^9 копий/мл.

- Тестирование клинических образцов с ранее диагностированными патогенами.

Отсутствие перекрестной реактивности было доказано при исследовании клинических образцов с ранее диагностированными патогенами:

Отсутствие перекрестной реактивности было доказано при исследовании клинических образцов с ранее диагностированными патогенами: Influenza A virus (H3N2), Influenza A virus (H5N1), Influenza B virus, Respiratory syncytial virus (A/B), Parainfluenza 1 virus, Parainfluenza 2 virus, Parainfluenza 4A, Parainfluenza 4B, Bordetella pertussis, Human metapneumovirus, Adenovirus, Human Bocavirus, Legionella spp, Mycoplasma spp, CMV.

В тестируемых образцах не наблюдалось перекрестной реактивности набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 с выбранными патогенами и геномной ДНК человека.

12.3.1. Перекрестная реактивность: анализ *in silico*.

Был проведен *in silico* анализ возможных перекрестных реакций со всеми организмами, перечисленными в п.12.3, с помощью BLAST-анализа праймеров набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 против индивидуальных геномных последовательностей из базы данных GenBank. BLAST-анализ не показал гомологии с праймерами и зондом «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 для организмов, перечисленных в п.12.3.

Результаты анализа *in silico* позволяют утверждать, что «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 разработан для специфичного обнаружения РНК SARS-CoV-2, без ожидаемой перекрестной реактивности с геномной ДНК человека и другими патогенами дыхательных путей, которые могут быть причиной ложноположительных результатов тестирования.

12.4. Аналитическая специфичность: Интерферирующие вещества.

Причиной сомнительных (неопределённых) результатов исследований с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 может быть наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала. Признаком ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие или поздние циклы выхода ($C_t > 37$) флуоресцентного сигнала амплификации внутреннего контрольного образца ВКО-ms2 и специфического продукта для вируса SARS-CoV-2. К ингибиторам ПЦР, источником которых может являться клинический образец, отнесены следующие вещества: гемоглобин (присутствующий в образце РНК в результате неполного удаления в ходе выделения РНК из образца биоматериала, содержащего примесь крови), а также химические вещества экзогенного происхождения, которые могут присутствовать в клинических образцах верхних дыхательных путей.

По окончании реакции амплификации наличие сигнала (канал HEX), свидетельствующего о накоплении продукта внутреннего контроля ВКО-ms2 ($C_t \leq 37$), говорит о достаточной эффективности экстракции нуклеиновых кислот и отсутствии ингибиторов ОТ-ПЦР-РВ в образцах.

Было проведено исследование распространенных субстанций (как экзогенных, так и эндогенных веществ), которые могут присутствовать в респираторных образцах, и могут повлиять на работу набора реагентов. Каждое потенциальное интерферирующее вещество (см. таблицу №1) было оценено при наивысшей медицинской релевантной концентрации (наихудший случай) в присутствии эталонного материала SARS-CoV-2 (вирусной геномной РНК Twist Bioscience, Cat. № 102019), добавленного к отрицательным клиническим мазкам из носоглотки, с конечной концентрацией 1000 копий/мл. Подготовленные образцы с каждым потенциальным интерферирующим веществом экстрагировали для получения вирусной РНК и проводили исследования с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2.

Таблица №1. Исследование интерферирующих веществ

Интерферирующее вещество	Описание/активное вещество	Концентрация	Результат анализа
Гемоглобин	Кровь человека	2% (v/v)	Не влияет
Противоотечный назальный спрей/капли	Oxymetazoline	15% (v/v)	Не влияет
Кортикостероиды/ мазь для носа	Dexamethasone	375 мкг/мл	Не влияет
Антивирусные препараты	Zanamivir	5 мг/мл	Не влияет

Антибиотик / мазь для носа	Mupirocin	0.02% (w/v)	Не влияет
Муцин	Слюна человека	5%	Не влияет

Исследование интерферирующих веществ показало, что распространенные эндогенные и экзогенные интерференты в указанных количествах не влияют на работу набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2.

13. Функциональные (диагностические) характеристики набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

Для оценки диагностических характеристик набора реагентов было проведено исследование 411 ретроспективных деидентифицированных клинических образцов (мазки из носоглотки, ротоглотки (горла), а также смешанные образцы, полученные из мазков из носоглотки и ротоглотки), из которых 193 положительных по наличию РНК SARS-CoV-2 и 218 отрицательных.

Все образцы были слепыми и рандомизированными. Результаты тестирования приведены в таблице №2.

Таблица №2. Исследование диагностической чувствительности и специфичности.

Вид исследуемого материала		Сравнительный анализ	
Образцы верхних дыхательных путей (мазки из ротоглотки, носоглотки или смешанные образцы, полученные из мазков из ротоглотки и носоглотки)		Положительный	Отрицательный
SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F	Положительный	193	0
	Отрицательный	0	218
Диагностическая чувствительность 193/193 (ДИ 95%) - 100% (99,98%-100,0%)			
Диагностическая специфичность 218/218 (ДИ 95%) - 100% (99,98%-100,0%)			

Диагностические характеристики набора реагентов были оценены как 100% (ДИ 95%: 99,98%-100,00%) диагностическая чувствительность и 100% (ДИ 95%: 99,98%-100,00%) диагностическая специфичность для образцов верхних дыхательных путей. Не наблюдалось ложноположительных и ложноотрицательных результатов при проведении ОТ-ПЦР-РВ с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2.

14. Предупреждения и рекомендации при работе с набором «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2

14.1. Рекомендации при работе с набором

- Применять набор реагентов строго по назначению, согласно данной инструкции;
- При удалении пробирок, содержащих продукты ПЦР, недопустимо их открывание и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов;
- Всегда использовать защитные перчатки, профессиональную одежду, защитные очки и т. д. При работе с образцами и реагентами для проведения исследований следить за тем, чтобы реагенты не попали на кожу, в глаза, на слизистые. При контакте с ними немедленно промыть большим количеством воды. Необходимо тщательно мыть руки после работы с образцами и реагентами;
- При переносе клинического материала из пробирок, флаконов в новые использовать только отдельные одноразовые стерильные наконечники с аэрозольными барьерами;
- Использовать расходные материалы (пластиковые пробирки и наконечники) только с маркировкой «DNase-, RNase-free»;
- Предотвращать возможную контаминацию реагентов, следуя стандартным процедурам, включая использование средств индивидуальной защиты и разобщение зон обработки образцов, экстракции нуклеиновых кислот и зоны постановки ПЦР-РВ;
- Положительный контроль к мишени гена N (ПКО-В) может вызвать контаминацию, если с ним обращаться неосторожно. ПКО-В рекомендуется хранить отдельно от всех других реагентов и образцов;
- Не использовать набор реагентов, если упаковка повреждена или пробирка с реактивом протекает (имеется риск контаминации или снижения производительности, что может привести к неправильной оценке результатов);
- Не смешивать разные серии реагентов;
- Не использовать набор реагентов по истечении срока годности;

- Не использовать реагенты других производителей;
- После работы обрабатывать поверхности 0,5% гипохлоритом натрия (отбеливателем), разбавленным деионизированной или дистиллированной водой.

14.2. Требования безопасности

Лаборатории, выполняющие исследования по определению РНК к коронавирусу SARS-CoV-2, обязаны обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия. Работа с исследуемыми образцами, при необходимости, должна проводиться с соблюдением требований МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности», 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», МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», BMP «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные;
- инактивировать исходные исследуемые образцы биологического материала, при необходимости, 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»;
- Необходимо одновременно обеспечить соблюдение персоналом правил биологической безопасности и требований к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации положительным контролем ПКО-В исследуемых проб, помещений и оборудования;
- При работе с набором реагентов соблюдать требования Правил проведения лабораторных исследований, утвержденных Приказом Минздрава России от 18.05.2021 N 464н «Об утверждении Правил проведения лабораторных исследований» и ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности»;
- Потенциальный риск применения набора реагентов по Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Минздрава Российской Федерации № 4н от 6 июня 2012 года (в редакции Приказа Минздрава России от 25.09.2014 N 557н) – класс 3;
- Все использованные материалы, инструменты и оборудование, рабочее место дезинфицировать в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3686-21 и МУ-287-113;
- Утилизация набора реагентов с истекшим сроком годности и отработанных препаратов должна соответствовать требованиям СанПиН 2.1.3684-21.

14.3. Требования охраны окружающей среды

- Набор реагентов не содержит веществ и материалов, требующих обеспечения специальных мер безопасности, и не представляет опасности для людей в течение всего срока годности;
- Набор 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;
- Набор реагентов не требует специальных мер безопасности относительно риска электромагнитных помех, поскольку в состав набора реагентов не входят и в результате применения не появляются какие-либо источники излучения;
- Все компоненты набора реагентов нетоксичны для человека в используемых концентрациях. Реагенты, входящие в состав набора реагентов, безопасны для окружающей среды, не содержат цианид и азид натрия, а также другие вредные вещества;
- Набор реагентов не содержит: лекарственных средств для медицинского применения, материалов животного и (или) человеческого происхождения, материалов, которые являются канцерогенными, мутагенными или токсичными, возможное выделение или вымывание которых приводит к сенсибилизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.

15. Утилизация отходов

Серии (партии, LOT) наборов реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

Уничтожение и утилизацию наборов реагентов следует проводить 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» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»:

- Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожают разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор;
- Отходы биоматериала (инфицированные и потенциально инфицированные отходы) из клинико-диагностических лабораторий, работающих с микроорганизмами 1-4 групп патогенности, образцы материала после пробоподготовки (выделение РНК) и отходы после проведения амплификации относятся к классу Б (эпидемически опасные отходы);
- Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию/обезвреживанию. Выбор метода обеззараживания/обезвреживания определяется возможностями организации, осуществляющей медицинскую деятельность, и выполняется при разработке схемы обращения с медицинскими отходами.

16. Проведение исследования

16.1. Выделение РНК

См. п. 8.2.

Внимание! Экстракция РНК из клинического материала проводится **строго (!)** в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для экстракции РНК.

Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 совместим с наборами для экстракции РНК или совместной экстракции ДНК/РНК на основе методов осаждения и сорбции на силикагеле или магнитных частицах, в том числе с использованием автоматических станций для выделения нуклеиновых кислот, обеспечивающих выделение целостной РНК без примесей, ингибирующих реакцию обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) (перечень наборов для выделения РНК приведен в п. 10.3).

Внимание! Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 не совместим с экспресс-методиками выделения РНК.

16.2. Подготовка компонентов набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 к проведению исследования.

После этапа экстракции РНК из клинических образцов следует этап подготовки реакционной смеси для проведения совмещенной реакции обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ).

Все компоненты набора реагентов готовы к приготвлению реакционных смесей и не требуют дополнительного разведения. Перед использованием все компоненты реакционной смеси необходимо встряхнуть на вортексе и сбросить капли краткосрочным центрифугированием.

16.2.1. Компоненты набора реагентов, необходимые для постановки ОТ-ПЦР-РВ:

ФОРМА 1

- Mastermix (ММ);
- Enzyme mix (ЕМ);
- Отрицательный контроль (К-).

ФОРМА 2

- Смесь для амплификации лиофилизированная (МЕМ)
- Diluent (DIL)
- Отрицательный контроль (К-).

16.2.2. Образцы, необходимые для постановки ОТ-ПЦР-РВ:

- Клинические образцы (РНК), после этапа выделения РНК;
- Отрицательный контрольный образец этапа выделения РНК (ОКО), после этапа выделения РНК;
- Положительный контрольный образец (ПКО-В), после этапа выделения РНК.

Внимание! ПКО-В содержит искусственную кДНК, несущую фрагмент гена N. Неосторожное обращение с ПКО-В может вызвать контаминацию. При внесении ПКО-В соблюдайте стандартные меры по предотвращению перекрестной контаминации образцов. Храните ПКО-В отдельно от всех других реагентов и образцов.

16.3. Приготовление реакционной смеси для проведения реакции ОТ-ПЦР-РВ.

16.3.1. ФОРМА 1: Пробирки с компонентами набора реагентов (Master mix, Enzyme mix, ПКО-В, К-) перемешать на вортексе, сбросить капли краткосрочным центрифугированием;

ФОРМА 2: Пробирки с компонентами набора реагентов (Diluent, ПКО-В, К-) перемешать на вортексе, сбросить капли краткосрочным центрифугированием. Срок хранения реагента MEM после удаления герметизирующей пленки составляет 24 часа.

Для каждой постановки ОТ-ПЦР-РВ необходимо включение трех контрольных реакций:

- ОКО – отрицательный контроль этапа выделения РНК;
- К- (ddH₂O) – отрицательный контроль этапа ПЦР-РВ;
- Положительный контроль к мишени гена N (ПКО-В).

16.3.2. ФОРМА 1: Приготовить и промаркировать одноразовую полипропиленовую пробирку типа «Эппендорф» вместимостью 1,5 мл или 2,0 мл для приготовления амплификационной смеси.

Приготовить амплификационную смесь, используя реагенты Mastermix, Enzyme mix в следующей пропорции (на 1 реакцию):

Реагент	Объем (мкл)
Mastermix	14
Enzyme mix	1

Внимание! Рекомендуется приготовить амплификационную смесь для $(N+3+1)$ образцов, где:

N - количество клинических образцов;

3 - три контрольных образца (ОКО, К-, ПКО-В), входящие в каждую постановку ОТ-ПЦР-РВ;

1 - одна дополнительная реакция, для учета возможной неточности дозирования.

ФОРМА 2:

Планшет MEM содержит полностью готовую смесь для амплификации.

16.3.3. ФОРМА 1: Приготовьте микропробирки объемом 0,2 мл или используйте ПЦР планшет или стриппированные пробирки, включенные в ФОРМУ 1, из расчета одна пробирка на один исследуемый образец РНК и три пробирки для контрольных образцов (ОКО, К-, ПКО-В). Образец схемы внесения образцов в планшет (для 21 образца) представлен на рисунке 1а, для внесения образцов в стриппированные пробирки (для 5 образцов) представлен на рисунке 1б.

ФОРМА 2: Возьмите необходимое количество стрипов MEM из расчета одна пробирка на один исследуемый образец РНК и три пробирки для контрольных образцов (ОКО, К-, ПКО-В). Образец схемы внесения образцов в планшет (для 21 образца) представлен на рисунке 1а, для внесения образцов в стриппированные пробирки (для 5 образцов) представлен на рисунке 1б.

Рисунок 1а:

	1	2	3	4	5	6	7
A	ОКО	Образец №6	Образец №14				
B	К- (ddH ₂ O)	Образец №7	Образец №15				
C	ПКО-В	Образец №8	Образец №16				
D	Образец №1	Образец №9	Образец №17				
E	Образец №2	Образец №10	Образец №18				
F	Образец №3	Образец №11	Образец №19				
G	Образец №4	Образец №12	Образец №20				
H	Образец №5	Образец №13	Образец №21				

Рисунок 1б:

1	2	3	4	5	6	7	8
ОКО	К- (ddH ₂ O)	ПКО-В	Образец №1	Образец №2	Образец №3	Образец №4	Образец №5

16.3.4. ФОРМА 1: В каждую микропробирку или лунку планшета внести 15 мкл приготовленной амплификационной смеси (п.16.3.2.).

ФОРМА 2: В каждую микропробирку или лунку планшета внести 15 мкл дилуента (DIL).

16.3.5. Внесение исследуемых образцов

ФОРМА 1: Используя наконечники с аэрозольным барьером, последовательно внести в пробирки или планшет с амплификационной смесью согласно схеме (Рисунок 1а, 1б) исследуемые образцы:

ФОРМА 2: Используя наконечники с аэрозольным барьером, последовательно внести в пробирки или планшет с амплификационной смесью согласно схеме (Рисунок 1а, 1б) исследуемые образцы, тщательно пипетируя содержимое лунки после внесения каждого образца:

Образец	Объем (мкл)	Описание
ОКО	10	Контрольный образец ОКО, после этапа выделения РНК
ПКО-В	10	Контрольный образец ПКО-В (ген N), после этапа выделения РНК
К-	10	ddH ₂ O, входит в состав набора реагентов
РНК (Образец №)	10	Клинические образцы (надосадочная жидкость соответствующего клинического образца, прошедшего этап выделения РНК)

Внимание! ПКО-В содержит искусственную РНК, несущую фрагмент гена N. Неосторожное обращение с ПКО-В может вызвать контаминацию. При внесении ПКО-В соблюдайте стандартные меры по предотвращению перекрестной контаминации образцов. Храните ПКО-В отдельно от всех других реагентов и образцов.

16.3.6. После внесения образцов убедитесь, что все крышки пробирок плотно закрыты. Заклейте прозрачной пленкой ПЦР планшет или стрипы. Кратко центрифугируйте (в течение 3-5 секунд) пробирки или ПЦР планшет на центрифуге перед постановкой в амплификатор.

16.4. Проведение ОТ-ПЦР-РВ

16.4.1. Перенести пробирки или планшет в амплификатор с детекцией результатов «в режиме реального времени» и провести амплификацию по следующей программе:

Программа амплификации

Температура	Время	Количество циклов
55 °C	10 мин	1
94 °C	3 мин	1
94 °C	10 сек	5
58 °C	20 сек	
94 °C	10 сек	
58 °C	20 сек (детекция сигнала по каналам FAM, HEX)	40

Внимание! Перед запуском программы амплификации убедитесь, что для всех используемых пробирок или лунок планшета заданы верные каналы детекции сигнала FAM/GREEN, HEX/JOE/R6G/Yellow/Cy3.

На первом этапе программы (55°C) проходит реакция обратной транскрипции (ОТ), в ходе которой на матрице РНК происходит синтез комплементарной ДНК (кДНК). Далее проходит реакция ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) в течение 45 циклов, происходит амплификация специфического участка кДНК вируса SARS-CoV-2 и мишени внутреннего контрольного образца ВКО-ms2, с одновременной флуоресцентной детекцией продуктов.

17. Обсчет и интерпретация результатов

Детекция продуктов амплификации «в режиме реального времени» осуществляется прибором автоматически в каждом цикле амплификации. На основании этих данных программное обеспечение амплификатора строит кривые накопления флуоресцентного сигнала по каждому из заданных каналов. После окончания амплификации программное обеспечение прибора рассчитывает циклы пересечения кривых накопления флуоресцентного сигнала с автоматически выставленной пороговой линией (Ct). В случае неправильного автоматического выставления пороговой линии, рекомендуется выполнить это действие вручную. Пороговая линия должна находиться в диапазоне, где флуоресцентные кривые положительных образцов параллельны друг другу (шкала флуоресценции должна отображаться в момент анализа в логарифмическом формате). Отсутствие значения для образца (значение N/A) означает, что пересечения кривой накопления флуоресцентного сигнала с пороговой линией не наступило.

17.1. Интерпретация результатов.

17.1.1. Мишени, детектируемые по каналам флуоресценции.

Канал	FAM/GREEN	HEX/JOE/R6G/Yellow/Cy3
Мишень	Ген N (специфичный для SARS-CoV-2)	Внутренний контрольный образец (мишень ВКО-ms2)

Кривые амплификации, в норме полученные для отрицательных (рисунок 2а) и положительных (рисунок 2в) контрольных образцов, а также для положительного (рисунок 2а) и отрицательного (рисунок 2б) клинических образцов представлены ниже.

Рисунок 2а:

Отрицательный контрольный образец (К-).

Регистрируется отсутствие сигнала на всех каналах детекции.

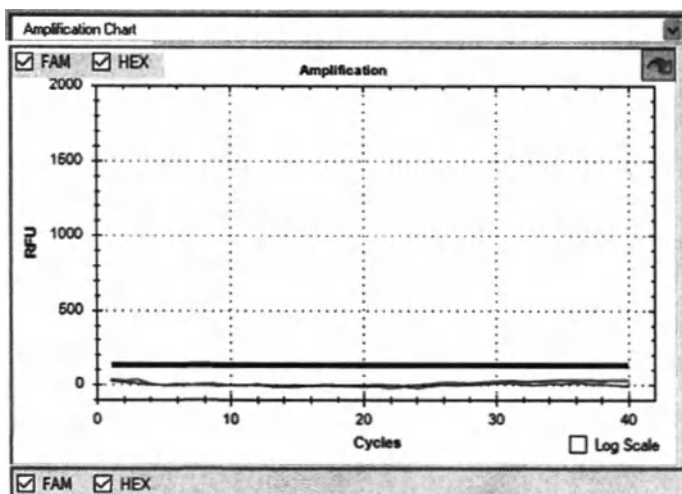


Рисунок 2б:

Отрицательные клинические образцы и отрицательный контрольный образец выделения (ОКО).
Регистрируется сигнал внутреннего контрольного образца выделения РНК (мишень ВКО-па2) по каналу HEX. Сигнал мишени гена вируса SARS-CoV-2 по каналу FAM отсутствует.

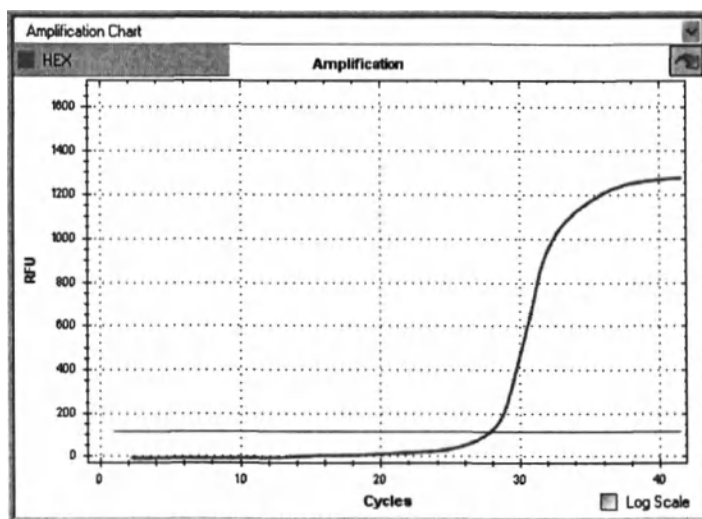
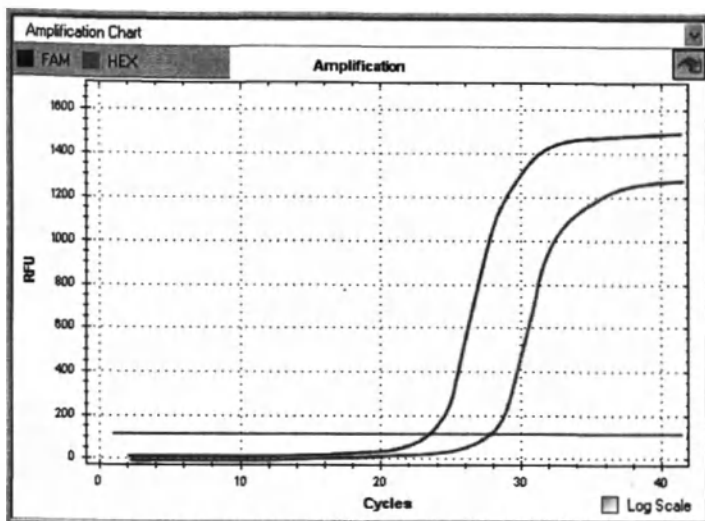


Рисунок 2в:

Положительные клинические образцы и положительный контрольный образец (ПКО-В).
Регистрируется сигнал внутреннего контрольного образца выделения РНК (мишень ВКО-па2) по каналу HEX. Регистрируется сигнал мишени гена N вируса SARS-CoV-2 по каналу FAM.



17.1.2. Интерпретация результатов исследования проводится в соответствии с таблицей №3:

Таблица №3. Интерпретация результатов исследования.

	Ct FAM (ген N)	Ct HEX (мишень ms2)	Результат
ОКО	-	+ (Ct≤37)	Реакция прошла успешно, контаминация отсутствует
	+ (Ct≤37)	-/+	Проба контаминирована. Требуется повтор постановки после принятия антиконтаминационных мер. Необходимо повторить постановку с этапа выделения РНК.
	-	- (Ct>37)	Реакция не прошла. Нарушен этап выделения РНК или возможно наличие ингибиторов в образце. Требуется провести повторное выделение биоматериала
К- (ddH ₂ O)	-	-	Реакция прошла успешно, контаминация отсутствует
	+ (Ct≤37)	-/+	Проба контаминирована. Возможна контаминация компонентов набора реагентов. Необходимо повторить постановку с этапа приготовления реакционных смесей.
	-/+	+ (Ct≤37)	
ПКО-В	+ (Ct≤37)	+ (Ct≤37)	Реакция прошла успешно
	- (Ct>37)	+ (Ct≤37)	Реакция не прошла. Требуется перестановка с этапа ОТ-ПЦР-РВ. Убедитесь, что в реакционную смесь внесены правильные соотношения всех компонентов набора реагентов.
	- (Ct>37)	- (Ct>37)	Реакция не прошла. Требуется перестановка с этапа экстракции РНК. Убедитесь, что в реакционную смесь внесены правильные соотношения всех компонентов набора реагентов.
Исследуемые образцы	+ (Ct≤37)	+ /-	Обнаружена РНК SARS-CoV-2
	- (Ct>37)	+ (Ct≤37)	Не обнаружена РНК SARS-CoV-2
	- (Ct>37)	- (Ct>37)	Реакция не прошла. Нарушен этап выделения РНК или возможно наличие ингибиторов в образце. Требуется провести повторное выделение или взятие биоматериала (выполняется последовательно).

17.2. Контроль качества проведения исследований

- Отрицательный контроль выделения РНК (ОКО) необходим для контроля контаминации проб на этапе выделения РНК. Он состоит из ВКО и деионизованной воды, свободной от нуклеаз, прошедших в качестве клинического образца все стадии выделения РНК. Отрицательный контроль ОКО следует ставить

один раз для каждой партии извлеченных образцов РНК. Для ОКО должно регистрироваться отсутствие сигнала флуоресценции на канале детекции FAM и детектироваться положительный сигнал по каналу HEX (см. п. 17.1.2; рис.2в);

- В случае детекции положительного сигнала флуоресценции для образца ОКО (см. п. 17.1.2) по каналу детекции FAM необходимо повторить всю постановку для клинических образцов с этапа экстракции РНК, предварительно приняв меры по антиконтаминации;

- Отрицательный контроль этапа амплификации ПЦР-РВ (К-) необходим для контроля контаминации образцов на этапе сборки реакционной смеси, а также контаминации реагентов для постановки ОТ-ПЦР-РВ. К- состоит из деионизованной воды, свободной от нуклеаз, добавленной в качестве образца в реакционную смесь. Отрицательный контроль следует ставить один раз для каждой партии экстрагированных образцов РНК. Для К- должно регистрироваться отсутствие сигнала флуоресценции на обоих каналах детекции, FAM и HEX (См. п. 17.1.2; рис.2а);

- В случае детекции положительных сигналов флуоресценции для образца К- (см. п. 17.1.2), необходимо повторить всю постановку для клинических образцов с этапа сборки реакционной смеси и постановки ОТ-ПЦР-РВ, предварительно приняв меры по антиконтаминации;

- Положительный контроль к мишени гена N (ПКО-В) - положительный контроль этапов выделения, обратной транскрипции и амплификации ПЦР-РВ. ПКО-В представляет собой искусственную РНК в белковой оболочке, несущую фрагмент гена N-белка вируса SARS-CoV-2. ПКО-В в качестве образца должен проходить через всю процедуру выделения РНК, в соответствии с инструкцией производителя набора реагентов для выделения РНК. Для ПКО-В должен регистрироваться положительный сигнал флуоресценции на каналах детекции FAM и HEX (см. п. 17.1.2; рис. 2б);

- Отсутствие положительных сигналов по одному или обоим каналам детекции для ПКО-В (см. п. 17.1.2) говорит о неудовлетворительном прохождении этапа выделения РНК, обратной транскрипции или амплификации ПЦР-РВ, что может быть связано с нарушениями в процессе приготовления реакционной смеси или нарушением режима хранения реагентов. В зависимости от результатов, полученных для других контрольных образцов, необходимо повторить всю постановку для клинических образцов с этапа выделения РНК, приготовления реакционных смесей или постановки ОТ-ПЦР-РВ;

- Внутренний контроль (ВКО-ms2) - необходим для контроля эффективности этапа выделения РНК и прохождения реакции ОТ-ПЦР-РВ. Он служит контролем, гарантирующим, что в каждом образце присутствует выделенная РНК, процесс ОТ-ПЦР прошел успешно и в образцах отсутствуют ингибиторы ПЦР. Внутренний контроль должен давать положительный результат для мишени по каналу HEX (см. п. 17.1.2; рис.2в, 2г.) в каждом клиническом образце и отрицательном контрольном образце выделения ОКО.

- Отсутствие положительного сигнала по каналу HEX, при отсутствии сигнала по каналу FAM, для клинических образцов (см. п. 17.1.2), говорит об неудовлетворительном прохождении этапа выделения РНК, реакции ОТ-ПЦР, и возможном наличии ингибиторов в образце. Необходимо повторить исследование для образцов с этапа экстракции РНК или взятия биоматериала (выполняется последовательно).

Сводная таблица контроля качества при успешной постановке образцов.

	Ct FAM (ген N)	Ct HEX (мишень ВКО-ms2)
ОКО	-	+ (Ct≤37)
К- (ddH₂O)	-	-
ПКО-В	+ (Ct≤37)	+ (Ct≤37)
Исследуемые образцы отрицательные	- (Ct>37)	+ (Ct≤37)
Исследуемые образцы положительные	+ (Ct≤37)	+/-

18. Условия хранения и транспортировки

18.1. Условия хранения.

18.1.1. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 должен храниться при температурном режиме +2...+8°C в защищенном от света месте в течение всего срока годности. Срок годности набора реагентов — 12 месяцев.

18.1.2. Срок хранения реагента MEM из набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 2 после удаления герметизирующей пленки составляет 24 часа.

18.1.3. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности и условия

хранения вскрытых реагентов соответствуют сроку годности и условиям хранения, указанным на этикетках для невскрытых реагентов.

18.2. Транспортирование

18.2.1. Набор реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 транспортируют всеми видами транспорта (в закрытых железнодорожных вагонах, в отапливаемых герметичных отсеках самолетов и автомобильным транспортом) по правилам перевозок грузов соответствующих транспортных ведомств. Условия транспортирования набора реагентов и его комплектов должны соответствовать условиям хранения!

18.2.2. Допускается транспортировка набора реагентов при температурном режиме +2...+8 °С.

18.2.3. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

19. Гарантия производителя

Предприятие-производитель гарантирует соответствие функциональных характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения. Срок годности набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 составляет 12 месяцев с даты изготовления набора реагентов. Требования к транспортировке, хранению и применению набора реагентов «SARS-CoV-2 RNA-DETECTION-1F» ФОРМА 1 и ФОРМА 2 указаны в п.18 настоящей инструкции.

20. Порядок подачи рекламаций

Рекламации на специфические и физические свойства набора реагентов направлять в адрес предприятий-изготовителя: Общество с ограниченной ответственностью «Аллель Центр Инновационных Биотехнологий» (ООО «Аллель»), 123458, РФ, г. Москва, ул. Твардовского, дом 8, помещение V, комната 8 Тел. +7(495)780-92-96, lab@allel.tech.

21. Список обозначений

Символ	Значение символа
	Телефон
MM	Mastermix - смесь праймеров и зондов в буферном растворе
EM	Enzyme mix - смесь ферментов обратной транскриптазы MMLV и Taq полимеразы
BKO-ms2	BKO-ms2 – внутренний контроль экстракции РНК из клинических образцов
ПКО-В	ПКО-В - положительный контрольный образец к мишени гена N вируса SARS-CoV-2
К –	Отрицательный контрольный образец ПЦР-РВ
ПЛАНШЕТ	Планшет/стриппированные пробирки для проведения ОТ-ПЦР-РВ реакции
DIL	Дилуент - состав для растворения лиофилизованной формы MEM
MEM	MEM – лиофилизованная смесь для амплификации
IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
LOT	Код партии
	Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Предел температуры
REF	Номер по каталогу
	Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Верх

22. Сокращения и обозначения

SARS-CoV	- Severe acute respiratory syndrome coronavirus (коронавирус вызывающий острый респираторный синдром)
SARS-CoV-2	- Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (коронавирус вызывающий острый респираторный синдром 2), эквивалентные названия COVID-19 virus, 2019-nCoV, Wuhan seafood market pneumonia virus
COVID-19	- COrona VIRus Disease 2019, коронавирусное заболевание 2019
<i>in vitro</i>	- эксперименты с биологическим веществом (клетками или тканями) вне живого организма
nCoV	- novel coronavirus, новый коронавирус
MERS	- Ближневосточный респираторный синдром

ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	- полимеразная цепная реакция в реальном времени
ПКО-В	- положительный контрольный образец выделения
ОТ-ПЦР-РВ	- обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция в режиме реального времени
ОТ	- обратная транскрипция
ОРВИ	- острые респираторные вирусные инфекции
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ИВ	- интерферирующие вещества
НК	- нуклеиновые кислоты
РНК	- рибонуклеиновая кислота
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
кДНК	- комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
ВКО	- внутренний контрольный образец
К-	- отрицательный контрольный образец

23. Стандарты соответствия

- ГОСТ Р 51088-2013 «Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации»;
- ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 «Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения»;
- ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 «Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования»;
- ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании медицинских изделий, на этикетках и в сопроводительной документации, Часть 1, Основные требования»
- ГОСТ Р ИСО 23640-2015 «Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro».
- ГОСТ Р 51352-2013 «Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний»;
- ГОСТ Р ЕН 13612-2010 «Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro».

и скреплено печатью

24 Двадцать четыре листов

Генеральный директор ООО «Аллея»
Гамольский В.Л.

28 » апреля 20 г. подпись

