

Организация-производитель

Место производства

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «ДНК-Технология ТС»


С.А. Самарин
« 20 » сентября 2022 г.

Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НПО ДНК-Технология»


С.П. Левичев
« 20 » сентября 2022 г.**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ****Набор реагентов**

**для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 и определения наличия или отсутствия
делеции DEL31-33 в гене N, характерной для линии B.1.1.529 (SARS-CoV-2 Omicron),
методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени
(SARS-CoV-2/SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529))**

2022 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

SARS-CoV-2	- Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (коронавирус, вызывающий острый респираторный синдром 2)
COVID-19	- COrona VIRus Disease 2019, коронавирусное заболевание 2019
N:DEL31-33	- делеция DEL31-33 в участке гена N
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ОТ	- обратная транскрипция
ОРВИ	- острые респираторные вирусные инфекции
ИВ	- интерферирующие вещества
НК	- нуклеиновые кислоты
РНК	- рибонуклеиновая кислота
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
кДНК	- комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
ВК	- внутренний контроль
К-	- отрицательный контрольный образец

ВВЕДЕНИЕ

Вариант SARS-CoV-2, относящийся к линии B.1.1.529, характеризующийся большим количеством мутаций в гене S по сравнению с исходным вирусом, был обнаружен в начале ноября 2021 года. 26 ноября 2021 года вариант был обозначен как «вызывающий озабоченность» (VOC), и Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) присвоила ему наименование Омикрон.

Вариант Омикрон был впервые обнаружен в образцах, собранных в Ботсване (на 11 ноября 2021 года) и ЮАР (14 ноября 2021 года). Вскоре после этого вариант Омикрон также был выявлен в Бельгии, Гонконге и Израиле, и к январю 2022 года стал доминирующим вариантом в ряде стран.

Начиная с 26 ноября 2021 года вариант Омикрон классифицируется как «вызывающий озабоченность» (VOC) из-за опасений по поводу способности к ускользанию от иммунного ответа и потенциально повышенной контагиозностью по сравнению с Дельта-вариантом. Рядом организаций здравоохранения общий уровень риска, связанный с вариантом Омикрона SARS-CoV-2, оценивается как **ВЫСОКИЙ** или **ОЧЕНЬ ВЫСОКИЙ** [1].

Вариант Омикрон характеризуется более чем 30 мутациями в гене S (A67V, Δ69-70, T95I, G142D, Δ143-145, Δ211, L212I, ins214EPE, G339D, S371L, S373P, S375F, K417N, N440K, G446S, S477N, T478K, E484A, Q493K, G496S, Q498R, N501Y, Y505H, T547K, D614G, H655Y, N679K, P681H, N764K, D796Y, N856K, Q954H, N969K, L981F) из них 15 находятся в рецептор-связывающем домене, а также мутациями в других генах, как встречавшимися ранее так и выявленными впервые (NSP3 – K38R, V1069I, Δ1265, L1266I, A1892T; NSP4 – T492I; NSP5 – P132H; NSP6 – Δ105-107, A189V; NSP12 – P323L; NSP14 – I42V; E – T9I; M – D3G, Q19E, A63T; N – P13L, DEL31-33, R203K, G204R) [2].

В частности, мутация DEL31-33, представляющая собой делецию девяти нуклеотидов, исходя и из последовательностей, представленных в генетических базах данных, является характерной только для коронавируса SARS-CoV-2 варианта Омикрон, что позволяет рассматривать данную мутацию как мишень при дифференцировании варианта Омикрон от других вариантов [3].

Список использованных источников

1. Implications of the emergence and spread of the SARS-CoV-2 B.1.1. 529 variant of concern (Omicron) for the EU/EEA 26 November 2021 (European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, 2021).
2. Shailendra K. Saxena, Swatantra Kumar, Saniya Ansari, Janusz T. Paweska, Vimal K. Maurya, Anil K. Tripathi, Ahmed S. Abdel-Moneim * Characterization of the novel SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) variant of concern and its global perspective. <https://doi.org/10.1002/jmv.27524>.
3. Stanford University CORONAVIRUS ANTIVIRAL & RESISTANCE DATABASE (<https://covdb.stanford.edu>).

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

- 1.1 **Полное наименование набора реагентов:** Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 и определения наличия или отсутствия делеции DEL31-33 в гене N, характерной для линии B.1.1.529 (SARS-CoV-2 Omicron), методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)), далее по тексту – набор реагентов.
- 1.2 **Назначение:** Набор реагентов предназначен для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 и определения наличия или отсутствия делеции DEL31-33 в участке гена N, характерной для линии B.1.1.529 (SARS-CoV-2 Omicron), методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени в препаратах РНК, выделенных из биоматериала человека (мазки из носо- и ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный и назофарингеальный аспират, мокрота).
- 1.3 **Функциональное назначение:** для диагностики *in vitro*.
- 1.4 **Показания к проведению исследования:**
- Лица с симптомами ОРВИ и контактировавшие с заболевшим COVID-19, независимо от их возраста;
 - Лица всех возрастов без признаков ОРВИ (в очагах инфекции/ в условиях распространения инфекции) с целью раннего выявления коронавируса для предотвращения дальнейшего распространения инфекции.
- 1.5 **Демографические и популяционные аспекты:** Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов. Противопоказаний к применению нет.
- 1.6 **Область применения:** Набор реагентов может быть использован в клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений, безопасность работы лабораторий должна быть обеспечена в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.
- 1.7 **Потенциальные пользователи:** квалифицированный медицинский персонал, осуществляющий взятие и предобработку клинического материала, а также специалисты, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в установленном порядке.
- 1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2
ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ
2.1 Состав набора реагентов

REF R3-P447-S3/9, фасовка S, стрипы			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,62 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов	12 шт.		

Все компоненты набора реагентов готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов предназначен для однократного применения и рассчитан на 96 определений, включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов. Набор рассчитан на 12 постановок по 8 образцов (6 определяемых образцов, К+, К-).

2.3 Принцип метода

Метод: обратная транскрипция РНК с последующей амплификацией синтезированных фрагментов кДНК методом полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени; качественный анализ.

Принцип метода основан на использовании процесса обратной транскрипции РНК и последующей амплификации кДНК, заключающейся в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Этапы обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации кДНК проводят в одной пробирке.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта. Горячий старт обеспечивается методикой приготовления

реакционной смеси, состоящей из двух слоев, разделенных прослойкой из парафина. Старт полимеразной цепной реакции происходит только при расплавлении парафина и температурной диссоциации комплекса Таq-полимеразы и антител, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

В состав набора реагентов включен внутренний контрольный образец РНК-ВК "А", который предназначен для оценки этапа выделения РНК и качества прохождения полимеразной цепной реакции.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфического продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) возрастает пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов. Уровень флуоресценции измеряется на каждом цикле амплификации в режиме реального времени.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации искомой кДНК коронавируса SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) (наличие делеции N:DEL31-33), включена флуоресцентная метка Fam.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации искомой кДНК коронавируса SARS-CoV-2 (ген E), включена флуоресцентная метка Rox.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации искомой кДНК коронавируса SARS-CoV-2 без делеции N:DEL31-33, включена флуоресцентная метка Cy5.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта внутреннего контрольного образца, включена флуоресцентная метка Hex.

Использование нескольких флуоресцентных красителей позволяет сократить количество пробирок, поскольку появляется возможность регистрировать результаты разных реакций амплификации, проходящих в одной пробирке, одновременно.

В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Т а б л и ц а 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5
Участок гена N с наличием делеции DEL31-33, специфичной для коронавируса SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)	ВК*	Участок гена E, специфичный для всех вариантов коронавируса SARS-CoV-2	Участок гена N без делеции DEL31-33, специфичной для коронавируса SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)

* Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"

Исследование состоит из следующих этапов: выделение РНК (пробоподготовка), реакция обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификация кДНК с одновременной детекцией результатов с использованием набора реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529).

Выделение РНК рекомендуется проводить с использованием наборов/комплектов реагентов, указанных в таблице 4 данной инструкции по применению.

2.4 Время проведения анализа (включая пробоподготовку): от 2,5 часов.

3**АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ****3.1 Аналитическая специфичность**

В качестве мишеней выбраны два участка генома: специфичный для всех вариантов коронавируса SARS-CoV-2 участок гена E, и участок гена N, характеризующийся наличием или отсутствием делеции DEL31-33, специфичной для коронавируса SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529). Наличие делеции DEL31-33 позволяет отнести исследуемый образец коронавируса SARS-CoV-2 к варианту Omicron (B.1.1.529). В других вариантах SARS-CoV-2, известных на январь 2022 года, в данном участке делеция отсутствует.

Таким образом, наличие или отсутствие делеции позволяет дифференцировать Omicron (B.1.1.529) от других вариантов коронавируса SARS-CoV-2, известных по состоянию на январь 2022 года.

В образцах биологического материала человека, содержащих РНК коронавируса SARS-CoV-2 с наличием делеции N:DEL31-33, специфичной для коронавируса SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529), детектирующий амплификатор должен регистрировать положительный результат амплификации специфического продукта по каналам детекции Fam и Rox.

В образцах биологического материала человека, содержащих РНК коронавируса SARS-CoV-2 без делеции N:DEL31-33, специфичной для коронавируса SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529), детектирующий амплификатор должен регистрировать положительный результат амплификации специфического продукта по каналам детекции Rox и Cy5.

В образцах биологического материала человека, не содержащих РНК коронавируса SARS-CoV-2, детектирующий амплификатор должен регистрировать положительный результат амплификации внутреннего контроля по каналу Hex и отрицательный результат амплификации специфического продукта по каналам Fam, Rox и Cy5.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце РНК Human Coronavirus HKU-1, Human Coronavirus NL-63, Human Coronavirus 229E, Human Coronavirus OC-43, Human Rhinovirus, Human Respiratory syncytial virus A, B, Human Parainfluenza virus type 1, Human Parainfluenza virus type 2, Human Parainfluenza virus type 3, Human Parainfluenza virus type 4, Human Metapneumovirus, MERS-CoV, ДНК Human Adenovirus, *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, а также ДНК человека в концентрации до 10^8 копий/мл образца.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации участка гена N (отсутствует делеция DEL31-33) при исследовании образцов панели QCMD с вариантами коронавируса SARS-CoV-2: Variant B1.351 (Beta); Variant B1.1.7 (Alpha); Variant B.1.617.2 (Delta); вариант B.1.

3.2 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых) результатов. Признаком ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на проведение анализа с использованием набора реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) указаны в таблице:

Вид биоматериала	Набор/комплект реагентов для выделения	Интерферирующее вещество	Концентрация ИВ
Эндогенные вещества			
мазки из носо- и ротоглотки,	ПРОБА-НК ПРОБА-НК-S ПРОБА-МЧ-НК-S ПРОБА-МЧ DWP	Гемоглобин	0,35 мг/мл
бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный и назофарингеальный аспират, мокрота	ПРОБА-НК	Гемоглобин	0,35 мг/мл
мазки из носо- и ротоглотки	ПРОБА-НК ПРОБА-НК-S ПРОБА-МЧ-НК-S ПРОБА-МЧ DWP	Слизь (муцин)	20 %
бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный и назофарингеальный аспират, мокрота	ПРОБА-НК	Слизь (муцин)	20 %
Экзогенные вещества			
мазки из носо- и ротоглотки,	ПРОБА-НК ПРОБА-НК-S	Изопропиловый спирт*	10%
бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный и назофарингеальный аспират, мокрота	ПРОБА-НК	Изопропиловый спирт	10%
мазки из носо- и ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный и назофарингеальный аспират, мокрота	ПРОБА-НК	Метилацетат	10%

* Изопропиловый спирт и/или метилацетат входят в состав наборов/комплектов реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-S и могут оставаться в препаратах нуклеиновых кислот в результате их неполного удаления при нарушениях в технологии выделения.

3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения: 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку.

Предел обнаружения установлен путём анализа серийных разведений двух серий лабораторного контрольного образца (ЛКО).

Предел обнаружения РНК в образце биоматериала зависит от метода пробоподготовки образца и конечного объёма препарата выделенной РНК (объёма элюции).

Предел обнаружения 10 копий НК на амплификационную пробирку соответствует следующим значениям концентрации РНК в образце при использовании комплектов/наборов для выделения нуклеиновых кислот производства ООО «НПО ДНК-Технология», ООО «ДНК-Технология ТС»:

Биоматериал	ПРОБА-НК	ПРОБА-НК-S	ПРОБА-МЧ-НК-S	ПРОБА-МЧ DWP
	Предел обнаружения, копий/мл образца			
Мазок из носоглотки, ротоглотки в 500 мкл транспортной среды	500 копий/мл	500 копий/мл	2000 копий/мл	2000 копий/мл
Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират	500 копий/мл	Не применяется	Не применяется	Не применяется
Мокрота (предобработка с Na_3PO_4)	1000 копий/мл	Не применяется	Не применяется	Не применяется
Мокрота (предобработка с муколизинном)	5000 копий/мл	Не применяется	Не применяется	Не применяется

3.4 Диагностические характеристики

Выявляемые показатели	SARS-CoV-2 (без типирования)	SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)
Количество исследований (n)	182	146
Диагностическая чувствительность (95% ДИ)	100% (96,38% - 100%)	100% (89,42% - 100,00%)
Диагностическая специфичность (95% ДИ)	100% (95,60% - 100%)	100% (96,79% - 100,00%)

Диагностические характеристики по видам биоматериала:

Биоматериал	Мазки из носо-и ротоглотки	Бронхоальвеолярный лаваж	Эндотрахеальный и назофарингеальный аспират	Мокрота
SARS-CoV-2 (без типирования)				
Количество исследований (n)	112	18	27	25
Диагностическая чувствительность (95% ДИ)	100% (94,87% - 100,00%)	100% (69,15% - 100,00%)	100% (69,15% - 100,00%)	100% (69,15% - 100,00%)
Диагностическая специфичность (95% ДИ)	100,00% (91,59% - 100,00%)	100,00% (63,06% - 100,00%)	100,00% (80,49% - 100,00%)	100,00% (78,20% - 100,00%)
SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)				
Количество исследований (n)	18	5	5	5
Диагностическая чувствительность (95% ДИ)	100% (81,47% - 100,00%)	100% (47,82% - 100,00%)	100% (47,82% - 100,00%)	100% (47,82% - 100,00%)
Диагностическая специфичность (95% ДИ)	100% (93,84% - 100,00%)	100% (75,29% - 100,00%)	100% (84,56% - 100,00%)	100% (83,16% - 100,00%)

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Коронавирус SARS-CoV-2 отнесен ко II группе патогенности. Класс потенциального риска применения набора реагентов: 3 (Приказ Минздрава России от 06.06.2012 N 4н).

Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению РНК SARS-CoV-2 обязаны обеспечивать безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия. Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р 52905-2007, методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности», с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Согласно МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19»:

Организация лабораторной диагностики COVID-19 осуществляется в соответствии с требованиями санитарного законодательства по работе с микроорганизмами II групп патогенности.

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

Сбор клинического материала и его упаковку осуществляет работник медицинской организации, обученный требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность микроорганизмами II группы патогенности. Каждый образец материала помещают в отдельную транспортную емкость, обеспечивая требования в соответствии с таблицей методических рекомендаций МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19».

Все образцы, собранные для лабораторных исследований, должны рассматриваться как потенциально инфекционные, и медицинский персонал, который собирает или перевозит клинические образцы, должен строго соблюдать требования биологической безопасности как при работе с микроорганизмами II группы патогенности.

Перевозка образцов должна осуществляться в соответствии с требованиями санитарного законодательства по отношению к микроорганизмам II группы патогенности.

Все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфицированными, и при работе с ними должны учитываться требования СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике

инфекционных болезней». Медицинские работники, которые собирают или транспортируют клинические образцы в лабораторию, должны быть обучены практике безопасного обращения с биоматериалом, строго соблюдать меры предосторожности и использовать средства индивидуальной защиты (СИЗ).

При работе с микроорганизмами I-IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с СанПиН 3.3686-21 и определяется видом возбудителя, диагностическим методом, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

Выделение РНК следует проводить в боксах биологической безопасности II-III класса с включенным ламинарным потоком. Подготовку к ОТ-ПЦР с использованием набора реагентов возможно проводить в ПЦР-боксах.

Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое.

Дозаторы, используемые при работе с набором реагентов, должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники и др.) должны сбрасываться в контейнер для медицинских отходов, содержащий дезинфицирующий раствор (при необходимости).

ВНИМАНИЕ! Утилизировать отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации, так как это может привести к контаминации продуктами ПЦР (МУ 1.3.2569-09).

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СанПиН 3.3686-21.

Отходы биоматериала (инфицированные или потенциально инфицированные), образцы после пробоподготовки и ОТ-ПЦР, образующиеся в клиничко-диагностических лабораториях, относятся к классу В и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий

городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ 1.3.2569-09.

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасных компонентов	Указание на риски
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Нет опасных веществ	-
ОТ-ПЦР-буфер		
Фермент Taq/RT		
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	Азид натрия менее 0,1%	является безопасным для конечного пользователя
Положительный контрольный образец		

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При аварийных ситуациях возможно следующее: раздражение кожи и слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц, аллергическая реакция. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности контакт с организмом человека исключён.

Применять набор реагентов строго по назначению, согласно данной инструкции.

Не допускается использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора реагентов;
- по истечению срока годности.

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалы биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) требуются следующие оборудование и материалы:

- ПЦР-бокс
- бокс биологической безопасности II-III класса;
- детектирующий амплификатор планшетного типа, например, «ДТпрайм», «ДТлайт» (ООО «НПО ДНК-Технология»), или CFX96 (Bio-Rad);
- микроцентрифуга-вортекс с ротором для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл;
- холодильник с морозильной камерой;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 0,2 мл или для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл;
- дозаторы механические или электронные одноканальные с переменным объемом, позволяющие отбирать объем жидкости 2,0–20 мкл, 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- штатив для дозаторов;
- пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- емкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов

Оборудование и материалы для предобработки биоматериала и для выделения нуклеиновых кислот указаны в инструкциях по применению к соответствующим наборам/комплектам реагентов.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют мазки из носо- и ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный и назофарингеальный аспират, мокрота.

6.2 Особенности взятия биоматериала, в соответствии с МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19»

Каждый образец материала помещают в отдельную транспортную ёмкость, обеспечивая требования в соответствии с таблицей методических рекомендаций.

6.3 Транспортирование и хранение исследуемого материала, в соответствии в соответствии с МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19»

Таблица 3 – Условия транспортирования и хранения биоматериала

Тип образца	Требования к сбору материала	Транспортирование	Условия хранения до транспортирования	Комментарии
Мазок из носоглотки и зева (ротоглотки)	Пластиковые пробирки и тампоны для мазков**	4 °C	≤5 дней: 4 °C >5 дней*: -70 °C	Носоглоточные и орофарингеальные тампоны должны быть помещены в одну пробирку для увеличения вирусной нагрузки
Бронхоальвеолярный лаваж	Стерильный контейнер	4 °C	≤48 часов: 4 °C >48 часов *: -70 °C	Возможно небольшое разведение образца
Эндотрахеальный аспират, аспират носоглотки или смыв из носа	Стерильный контейнер	4 °C	≤48 часов: 4 °C >48 часов *: -70 °C	
Мокрота	Стерильный контейнер	4 °C	≤48 часов: 4 °C >48 часов *: -70 °C	Убедитесь, что материал поступает из нижних дыхательных путей

* при невозможности обеспечить хранение при минус 70 °C, образцы хранить при минус 20 °C.

** Для транспортировки образцов используют транспортную среду для хранения и транспортировки респираторных мазков или физиологический раствор (при условии транспортировки до лаборатории не более 24 часов после взятия образца) или сухой зонд-тампон (при условии транспортировки до лаборатории не более 4 часов после взятия образца).

Комментарий – рекомендуется использовать транспортные среды, содержащие консерванты, например, СТОР-Ф производства ООО «ДНК-Технология ТС» или аналогичные, зарегистрированные в установленном порядке, предназначенные для дальнейшего исследования образцов методом ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ВНИМАНИЕ! Диапазон вирусной нагрузки SARS-CoV-2 может варьировать в широких пределах от очень низких значений (10^4 и менее копий/мл) в биоматериале от лиц с бессимптомным носительством и лиц на стадии выздоровления до крайне высоких значений (более 10^9 копий/мл) в биоматериале от пациентов с клинической картиной острой вирусной пневмонии. В связи с этим при выполнении исследований в клинической лаборатории серьезную опасность представляет риск кросс-контаминации между образцами на всех этапах работы, особенно при аликвотировании и выделении РНК. Перекрестная контаминация высококопийным биоматериалом может приводить к появлению спорадических ложноположительных результатов.

Для предупреждения кросс-контаминации биоматериалом в лаборатории рекомендуется выполнение следующих правил:

1. Необходимо проводить визуальную оценку поступившего биоматериала и выбраковку всех образцов, если среди них есть пробирки с нарушенной герметичностью.
2. По возможности выделять в отдельный поток образцы от пациентов из стационара с симптомами острой инфекции и анализировать их отдельно от остальных образцов (биоматериал для скрининга контактировавших лиц и пациентов с легким течением заболевания). Работу с предполагаемыми высококопийными образцами желательно выполнять в отдельном боксе или после работы с предполагаемыми низкокопийными образцами.
3. Обязательно выполнять постановку отрицательных контрольных образцов, начиная с этапа выделения РНК, в каждом протоколе.
4. Использовать на всех этапах исследования наконечники с аэрозольными фильтрами.
5. Четко соблюдать методику выполнения исследования, открывать пробирки типа Эппендорф при помощи пинцета (не допускать касаний руки в перчатке внутренней части крышки пробирки); при внесении реагентов не касаться наконечником пробирки (если это произошло, сразу заменить наконечник).

7.1 Выделение РНК

Для выделения РНК из мазков из носо- и ротоглотки, бронхоальвеолярного лаважа, эндотрахеальный и назофарингеальный аспирата, мокроты используют комплекты/наборы реагентов для выделения РНК, зарегистрированные в РФ в установленном порядке (см. таблицу 4).

Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту реагентов.

ВНИМАНИЕ! Объем полученного препарата РНК должен составлять не более 50 мкл.

ВНИМАНИЕ! Полученный препарат РНК необходимо в течение двух часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Допускается однократное замораживание и хранение препарата РНК при температуре не выше минус 18 °С не более 7 суток.

Таблица 4 - Наборы реагентов, валидированные для выделения РНК для дальнейшего исследования набором реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)

Набор реагентов, производитель, РУ	Комплектация	Биоматериал
Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2010/08867	ПРОБА-НК	Мазки из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота
	ПРОБА-НК (укороченная методика в соответствии с Приложением А)	Мазки из носоглотки, ротоглотки
Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК-S) по ТУ 21.20.23-117-46482062-2020, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/11296	ПРОБА-НК-S	Мазки из носоглотки, ротоглотки
Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ-НК-S) по ТУ 21.20.23-118-46482062-2020 производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15267 (для автоматизированной пробоподготовки)	ПРОБА-МЧ-НК-S	Мазки из носоглотки, ротоглотки
Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ DWP) по ТУ 21.20.23-062-46482062-2020 производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15090 (для автоматизированной пробоподготовки)	ПРОБА-МЧ DWP	Мазки из носоглотки, ротоглотки

7.1.1 Особенности предобработки биоматериала при исследовании на наличие РНК коронавируса SARS-CoV-2

Предобработка биоматериала осуществляется в соответствии с используемым комплектом/набором реагентов для выделения РНК.

ВНИМАНИЕ! В ходе подготовки мазков из носоглотки и зева (ротоглотки), взятых в пробирку с транспортной средой, образцов бронхоальвеолярного лаважа, эндотрахеального, назофарингеального аспирата предварительное центрифугирование не требуется.

Для выделения используется **100 мкл образца**.

7.1.2 Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот

Внутренний контрольный образец

Для исключения ложноотрицательных результатов исследования и контроля качества исследования обязательно добавление **внутреннего контрольного образца** в клинические образцы на этапе выделения нуклеиновых кислот.

В качестве внутреннего контрольного образца при выделении РНК необходимо использовать **внутренний контрольный образец РНК-БК "А" из набора реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)**.

РНК-БК "А" следует использовать **в объеме 10 мкл на образец**.

Примечание - Внутренний контрольный образец (РНК-БК) и внутренний контрольный образец (ДНК-БК) из комплекта реагентов ПРОБА-НК при выделении РНК не используют.

Отрицательный контрольный образец

Для исключения ложноположительных результатов исследования и контроля качества исследования обязательно использование **отрицательного контрольного образца** с этапа выделения нуклеиновых кислот.

На этапе выделения нуклеиновых кислот обязательно подготовить **отрицательный контрольный образец** и провести его через все этапы выделения одновременно с выделением РНК из клинических образцов.

В качестве отрицательного контрольного образца рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав соответствующего комплекта/набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот в объеме, указанном в инструкции.

7.2 Подготовка и проведение реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

ВНИМАНИЕ! При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!

ВНИМАНИЕ! При использовании набора реагентов строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.2.1 Промаркируйте по одной стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого исследуемого образца, положительного контрольного образца (К+) и отрицательного контрольного образца (К-).

Пример: Необходимо проанализировать 6 образцов. Нужно промаркировать 6 пробирок для исследуемых образцов; одну пробирку для «К+» и одну пробирку для «К-». Общее количество пробирок – 8.

7.2.2 Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-вортексе содержимое пробирок «ОТ-ПЦР-буфер» и «Фермент Taq/RT» и центрифугируйте в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ! * Фермент Taq/RT необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

7.2.3 Приготовьте смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT. Для этого смешайте в отдельной пробирке:

- 15 x (N+1) мкл ОТ-ПЦР-буфера;
- 0,5 x (N+1) мкл фермента Taq/RT,

где N – количество промаркированных пробирок с учетом «К+» и «К-».

Пример: Необходимо проанализировать 6 образцов. Промаркированных пробирок – 8. Нужно приготовить смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT для 9 (8+1) пробирок, т.е. 135 мкл ОТ-ПЦР-буфера + 4,5 мкл фермента Taq/RT.

ВНИМАНИЕ! При взятии фермента Taq/RT необходимо погружать наконечник не более чем на 1,0 мм и соблюдать правила дозирования вязких жидкостей. Тщательно смыть остатки фермента Taq/RT с наконечника пипетированием не менее 5 раз.

7.2.4 Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-вортексе содержимое пробирки с приготовленной смесью «ОТ-ПЦР-буфер» и «Фермент Taq/RT» и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

Смесь можно хранить при температуре от 2 °C до 8 °C не более одного часа.

- 7.2.5 Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 15 мкл смеси ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT.
- 7.2.6 Встряхните пробирки с исследуемыми образцами и контрольными образцами в течение 3-5 с и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения РНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-НК-S необходимо после встряхивания поместить пробирки с препаратом РНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную РНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
 2. Для предотвращения контаминации следует перед внесением РНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед использованием следующего. Препараты РНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.
- 7.2.7 Внесите в соответствующие пробирки для исследуемых образцов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл полученного из образцов препарата РНК.
- 7.2.8 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 10 мкл положительного контрольного образца
- 7.2.9 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», не повреждая слой парафина, 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК.
- 7.2.10 Центрифугируйте пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.11 Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 40 мкл, по программе амплификации, приведенной в таблицах 5, 6.

Тесты (ini файлы) для приборов «ДТпрайм», «ДТлайт», предоставляются производителем набора реагентов.

Таблица 5 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	35	20	0	1		Цикл
2	95	5	0	1		Цикл
3	94	0	10	5	√	Цикл
	64	0	10			
4	94	0	5	45	√	Цикл
	64	0	10			
5	80	0	1	1		Цикл
6	10	...	...	Хранение		Хранение

√- режим оптических измерений

Таблица 6 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96 (Bio-Rad)

№ блока (Step)	Температура, °C	Время мин:сек	Количество циклов (повторов)
1	35	20:00	1
2	95	5:00	1
3	94	0:15	50
4	64 √	0:20	

√- режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по каналам Fam, Hex, Rox, и Cy5 при 64 °C

Примечание: Параметры, которые вводят при создании нового теста (программа амплификации, используемые каналы детекции, объём реакционной смеси и т.п.) в приборах серии ДТ, можно загрузить в виде готового файла с расширением ini.

Для удобства работы при первом проведении ОТ-ПЦР загрузите файл «SARS2_Omicron.ini» для работы с набором реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529).

При последующих постановках добавьте в протокол тест «SARS2_Omicron.ini», укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе положительного и отрицательного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ОТ-ПЦР.

Файл «SARS2_Omicron.ini» можно скачать с сайта компании www.dna-technology.ru

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации. Оформление протокола и анализ результатов проводится в соответствии с инструкцией к прибору.

9 УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

- 9.1 Учет результатов реакции осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.
- 9.2 Интерпретация проводится в соответствии с таблицами 7 и 8.

Таблица 7 – Интерпретация результатов исследования

Канал детекции				Интерпретация результата	Рекомендуемая выдача ответа пациенту
Fam	Hex	Rox	Cy5		
Анализируемые образцы					
Ср/Сq указан	Не учитывается	Ср/Сq указан	Ср/Сq не указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2. Выявлена делеция N:DEL31-33, специфичная для варианта SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2. Выявлен вариант SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)
Ср/Сq не указан	Не учитывается	Ср/Сq указан	Ср/Сq указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2. Отсутствует делеция N:DEL31-33, специфичная для варианта SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2. Вариант SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529) НЕ выявлен
Ср/Сq не указан	Ср/Сq указан	Ср/Сq не указан	Ср/Сq не указан	РНК коронавируса SARS-CoV-2 не обнаружена	РНК коронавируса SARS-CoV-2 НЕ обнаружена
Положительный контрольный образец					
Ср/Сq указан	Ср/Сq/Ct не указан	Ср/Сq указан	Ср/Сq указан	Результат положительный Результаты постановки валидны	-
Отрицательный контрольный образец					
Ср/Сq не указан	Ср/Сq указан	Ср/Сq не указан	Ср/Сq не указан	Результат отрицательный Результаты постановки валидны	-

Таблица 8 – Другие возможные результаты исследования

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam	Hex	Rox	Cy5	
Анализируемые образцы				
Ср/Сq > 37	Не учитывается	Ср/Сq не указан	Ср/Сq не указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2. Выявлена делеция N:DEL31-33, специфичная для варианта SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)
Ср/Сq не указан	Не учитывается	Ср/Сq не указан	Ср/Сq > 37	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2. Отсутствует делеция N:DEL31-33, специфичная для варианта SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529)
Ср/Сq не указан	Не учитывается	Ср/Сq > 37	Ср/Сq не указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2. Количество РНК недостаточно для определения наличия или отсутствия делеции N:DEL31-33.
Ср/Сq не указан	Ср/Сq не указан	Ср/Сq не указан	Ср/Сq не указан	Результат недостоверный

9.3 Недостоверный результат может быть вызван присутствием ингибиторов в препарате нуклеиновых кислот, полученном из клинического материала; ошибками преаналитического этапа, неверным выполнением протокола анализа, несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется либо повторная постановка обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции, либо повторное выделение препарата нуклеиновых кислот, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

9.4 При получении положительного результата амплификации специфического продукта (Ср /Сq указан) по каналам Fam, Rox или Cy5 в отрицательном контрольном образце «К–» результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

Предупреждения

Единичный отрицательный результат исследования не исключает инфекции.

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

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

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

10.1.1 Транспортирование набора осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора.

10.1.2 Допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре до 25 °С внутри контейнера не более 5 суток.

10.1.3 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.2 Хранение

10.2.1 Все компоненты набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.

10.2.2 Фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности.

10.2.3 Смесь для амплификации, запечатанную парафином следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора.

10.2.4 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.3 Указания по эксплуатации

10.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

10.3.2 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.

10.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:

- Все компоненты набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора. Стрипы со смесью для амплификации, запечатанной парафином, хранить в защищённом от света месте.
- Фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности.

10.3.4 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

- 11.1 При использовании набора реагентов в клиничко-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.
- 11.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

- 12.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.
- 12.2 Срок годности набора реагентов по результатам проверки в режиме реального времени при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации составляет 12 месяцев.¹

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для однократного использования и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон		Каталожный номер
	Количество тестов		Адрес изготовителя
	Годен до		Не допускается воздействие солнечного света
	Серия набора реагентов		* Нестерильно
	Дата изготовления		

¹ Методика не валидирована. Срок годности установлен на основании опыта применения аналогичных наборов реагентов.

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ 2.105-2019 ЕСКД Общие требования к текстовым документам.

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.

ГОСТ Р 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приёмка выпускаемой продукции. Основные положения.

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации.

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний.

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 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 23640-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.

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 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документа, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым документом).

16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения и EN ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС»;
ООО «ДНК-Технология ТС», Россия.

Адрес производителя: ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства: ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

По вопросам качества набора реагентов следует обращаться в службу клиентской поддержки.

Служба клиентской поддержки:

8 (800) 200-75-15 (звонок по России бесплатный),

+7(495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный),

E-mail: hotline@dna-technology.ru

Заместитель генерального директора по науке
ООО «НПФ ДНК-Технология»,
к.б.н.

СОГЛАСОВАНО
Директор ФГБУ «НМИЦ АГП
им. В.И. Кулакова» Минздрава России,
академик РАН, профессор



Д.Д. Абрамов
«20» 01 2022г.

Г.Т. Сухих
«20» 01 2022г.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Укороченная методика выделения РНК из исследуемого материала (мазки из носоглотки и ротоглотки) с использованием комплекта реагентов ПРОБА-НК

Примечание: В случае выпадения осадка в лизирующем растворе флакон следует прогреть при температуре 65 °С до полного растворения осадка.

1. Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объемом 1,5 мл (с защелкивающимися крышками, если необходимо) с учетом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).
2. Внесите в каждую пробирку по 10 мкл предварительно перемешанного на микроцентрифуге-вортексе внутреннего контрольного образца (РНК-ВК) из набора реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV-2 Omicron (B.1.1.529).
3. Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки.
4. В пробирки для исследуемых образцов добавьте по 100 мкл исследуемого материала. В пробирку, маркированную «К-», добавьте 100 мкл отрицательного контрольного образца.
5. Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с.
6. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин.
7. Центрифугируйте пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
8. Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с.
9. Центрифугируйте пробирки при 12000 - 16000 x g в течение 10 мин при комнатной температуре (18-25 °С).
10. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником для каждой пробирки).
11. Добавьте к осадку по 500 мкл промывочного раствора №1, закройте крышки пробирок и перемешайте, 3-5 раз аккуратно перевернув пробирки.
12. Центрифугируйте пробирки при 12000 - 16000 x g в течение 1 мин при комнатной температуре (18-25 °С).

13. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником для каждой пробирки).

14. Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, закройте крышки пробирок и перемешайте, 3-5 раз аккуратно перевернув пробирки.

15. Центрифугируйте пробирки при 12000 - 16000 x g в течение 1 мин при комнатной температуре (18-25 °C).

16. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником для каждой пробирки). Допускается оставить жидкость, покрывающую осадок, объемом не более 20-30 мкл.

17. Откройте крышки пробирок и высушите осадок при температуре 65 °C в течение 5 мин.

18. Добавьте к осадку 50 мкл буфера для растворения, встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с, и осадите капли центрифугированием пробирок в течение 3-5 с.

ВНИМАНИЕ! Использование буфера для растворения из комплекта реагентов ПРОБА-НК-ПЛЮС не допускается.

19. Прогрейте пробирки при температуре 65 °C в течение 5 мин. Встряхните пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

20. Осадите конденсат центрифугированием при 12000 - 16000 x g в течение 30 с при комнатной температуре (18-25 °C).

Препарат РНК готов для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

Полученный препарат РНК необходимо в течение двух часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Для возможности проведения повторного исследования оставшуюся РНК следует поместить в морозильную камеру и хранить при температуре не выше минус 18 °C не более 7 суток, не размораживая до постановки.



Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью

29

Савардур дотм листа (ов)



Зав. кабинетом научных
исследований
директора организации
института
ФГБУ "НИИВ АГП им. В.И. Кулякова"