

УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО «СЛТ»



Е.В. Печковский

«20» декабря 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

медицинского изделия для диагностики *in vitro*

«Тест-система для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2
в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени»

«QB-Direct-SARS-CoV-2»

по ТУ 21.20.23-004-75841125-2021

серия 211220

Регистрационное удостоверение № РЗН 0000/00000 от 00.00.2022 года

ООО «Современные лабораторные технологии»

р.п. Кольцово - 2021

Оглавление

1. Назначение тест-системы	3
2. Принцип действия тест-системы	4
3. Состав тест-системы	4
4. Аналитические характеристики	4
5. Меры предосторожности	5
6. Оборудование и материалы	6
7. Материал для исследования	7
8. Подготовка.....	8
9. Проведение анализа ОТ-ПЦР	8
10. Учет и интерпретация результатов ОТ-ПЦР	10
11. Ограничения по использованию.....	11
12. Хранение, транспортировка и утилизация	11
13. Гарантии производителя и сведения о рекламациях	11
14. Разработчик.....	12
15. Символы, применяемые для маркировки	12

1. Назначение тест-системы

1.1 Настоящая инструкция распространяется на медицинское изделие для диагностики *in vitro* «Тест-система для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени» «QB-Direct-SARS-CoV-2» по ТУ 21.20.23-004-75841125-2021, серия 211220, (далее по тексту – Тест-система), производства ООО «Современные лабораторные технологии» (далее по тексту – ООО «СЛТ»).

1.2 Тест-система «QB-Direct-SARS-CoV-2» предназначена для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, выделенных из образцов клинического материала, полученных при взятии мазков из носоглотки и ротоглотки, методом одностадийной полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме «реального времени» у лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания, схожего с инфекцией, вызванной SARS-CoV-2, в особенности у прибывающих из эпидемиологически неблагополучных регионов сразу после первичного осмотра, а также контактных лиц («Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-2019)» утвержденные Минздравом РФ»).

1.3 Сокращенное наименование тест-системы: «QB-Direct-SARS-CoV-2».

1.4 Тест-система применяется только для диагностики *in vitro*.

1.5 Время проведения анализа составляет 80-90 мин.

1.6 Тест-система рассчитана на проведение 100 определений, включая контрольные.

1.7 Анализ проводится в клиничко-диагностической лаборатории (КДЛ) методом ОТ-ПЦР в амплификаторах планшетного и роторного типов.

1.8 Только для профессионального применения.

1.1 Потенциальные пользователи: квалифицированный медицинский персонал, осуществляющий взятие и предобработку клинического материала, а также специалисты, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в КДЛ в установленном порядке (согласно СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»).

1.2 Показания к применению

Тест-систему следует использовать:

- в комплексной диагностике тяжелого острого респираторного синдрома COVID-19 всех групп населения вне зависимости от формы и наличия манифестации заболевания;

- как вспомогательное средство диагностики COVID-19 у пациентов с клиническими проявлениями вирусно-бактериальных поражений легких;

- при обследовании пациентов с симптомами ОРВИ;

- при обследовании лиц, контактировавших с инфицированными SARS-CoV-2, с целью детекции раннего периода, бессимптомных и стертых форм заболевания;

- при обследовании лиц, прибывающих из регионов с высоким уровнем инфицирования SARS-CoV-2 и их повторное обследование перед выходом из обсервации;

- параллельно с иммунологическими тестами для определения SARS-CoV-2-статуса обследуемого.

1.3 Противопоказания

При использовании специально обученным персоналом и с учетом применения по назначению противопоказания не выявлены.

- Истекший срок годности тест-системы.

- Нарушение внутренней упаковки компонентов тест-системы.
- Внешний вид компонентов не соответствует их описанию в инструкции.
- Ненадлежащие условия хранения и / или транспортирования тест-системы.
- Другие противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда забор материала не может быть осуществлен по медицинским показаниям.

1.4 Побочные действия, связанные с применением тест-системы, отсутствуют.

2. Принцип действия тест-системы

2.1 Принцип действия тест-системы основан на одностадийной полимеразной цепной реакции обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени с детекцией генетического материала коронавируса SARS-CoV-2 с помощью гидролизуемых флуоресцентно-меченных гибридных олигонуклеотидов после выделения РНК с конверсией комплементарной ДНК (далее - кДНК) SARS-CoV-2 и ее обнаружение путем амплификации двух различных мишеней в геноме вируса: гены ORF1ab и N, и кДНК эндогенного внутреннего контрольного образца (ВКО).

2.2 Тест-система обладает высокой диагностической устойчивостью к мутациям вируса за счет использования двух различных мишеней в геноме вируса: ORF1ab и ген N.

2.3 Сигналы флуоресценции регистрируются независимо друг от друга по следующим каналам:

- ROX – регистрация сигнала кДНК коронавируса SARS-CoV-2;
- FAM – регистрация эндогенного ВКО.

3. Состав тест-системы

3.1 Состав тест-системы представлен в таблице 1:

Таблица 1

№ п./п.	Компонент	Характеристика и внешний вид	Фасовка
1	ОТ-ПЦР	Реакционная смесь. Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних включений.	1 пробирка 500 мкл
2	Праймеры	Набор олигонуклеотидных праймеров. Прозрачная жидкость розового цвета без посторонних включений.	1 пробирка 1500 мкл
3	ПКО	Положительный контрольный образец. Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних включений.	1 пробирка 200 мкл
4	ОКО	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних включений.	1 пробирка 1000 мкл
5	Паспорт качества	-	1 шт.
6	Инструкция по применению	-	1 шт.

3.2 Все компоненты тест-системы готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

Примечание: Паспорт качества и инструкция по применению входят в комплект поставки тест-системы. Количество экземпляров паспорта качества и инструкции по применению определяется в договоре на поставку продукции. Инструкция по применению и паспорт качества поставляются в бумажном виде.

4. Аналитические характеристики

4.1 Предел обнаружения

4.2 Предел обнаружения составляет $1,0 \times 10^3$ копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 в 1 мл анализируемого образца с помощью собственной выделительной системы и с использованием медицинских изделий, зарегистрированных в установленном порядке в

Российской Федерации, например: Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008, ФБУН ЦНИИЭ, Россия, РУ № ФСР 2008/03147 от 06.08.2021 г. (далее по тексту - Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп»), Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов «РеалБест Сорбитус (вариант 1×96)» по ТУ 21.20.23-109-23548172-2020, АО Вектор-Бест; Россия, РУ № РЗН 2020/11364 от 22.09.2020 (далее по тексту - Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов «РеалБест Сорбитус (вариант 1×96)»).

Заявленный производителем предел обнаружения достигается при соблюдении регламентированных правил взятия, транспортировки, обработки и хранения проб клинического материала, а также при выполнении требований настоящей инструкции.

4.3 Диагностическая чувствительность

4.4 Диагностическая чувствительность при выявлении РНК коронавируса SARS-CoV-2 составила 100 % (25/25; CI_{0,05}: 86,7-100,0).

4.5 Диагностическая специфичность

4.6 Диагностическая чувствительность при выявлении РНК коронавируса SARS-CoV-2 составила 100 % (25/25; CI_{0,05}: 86,7-100,0).

4.7 Специфичность

Специфичность составляет 100 % без ложноположительных результатов с использованием контрольной панели образцов «KPII-Direct-SARS-CoV-2-П/О», содержащих и не содержащих инактивированную РНК вируса SARS-CoV-2.

4.8 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность тест-системы была определена посредством испытания образцов нуклеиновых кислот респираторных инфекций: возбудителей респираторных инфекций: вирусы гриппа типа А и В, респираторно-синцитиальный вирус (PCV), вирусы парагриппа, риновирусы, аденовирусы, человеческие метапневмовирусы, *MERS-CoV*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenza type B*, *Legionella*.

При тестировании вышеперечисленных заведомо отрицательных образцов положительные результаты отсутствовали.

4.9 Интерферирующие вещества (ингибиторы)

Содержание гиалуроновой кислоты (эквивалента муцина до 5 % по объёму) или гемоглобина (до 5 % по объёму) в мазках из носоглотки и ротоглотки не влияют на результат анализа.

5. Меры предосторожности

5.1 Тест-система предназначена для использования в лабораториях, соответствующих требованиям МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» и СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

5.2 Класс потенциального риска применения медицинского изделия в соответствии с номенклатурной классификацией медицинских изделий – 3 (Приказ МЗ РФ № 4н от 06.06.2012 г.).

5.3 Все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфекционными и при работе с ними должны соблюдаться 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).

5.4 Используемые одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими растворами с последующей утилизацией согласно СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

5.5 Использовать при каждой операции новые одноразовые наконечники с фильтром для автоматических или механических дозаторов. Одноразовые пластиковые материалы (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

5.6 Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы, тапочки или сабо, защитные очки, полумаски, одноразовые перчатки, нарукавники и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

5.7 Лабораторное оборудование и принадлежности, которые используются при работе с тест-системой, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

5.8 После окончания работ следует провести обработку рабочих поверхностей оборудования с использованием дезинфицирующих растворов, включить бактерицидные лампы с целью предотвращения возможной контаминации рабочих поверхностей оборудования.

5.9 Не использовать по истечении срока хранения, при нарушении условий транспортировки и хранения, при несоответствии внешнего вида реагентов указанному в паспорте качества тест-системы, при нарушении внутренней упаковки компонентов тест-системы.

5.10 Все компоненты тест-системы содержат натрия азид в концентрации менее 0,1 %, являются нетоксичными и неопасными при использовании по назначению и не требуют соблюдения специальных мер предосторожности.

5.11 При использовании тест-системы требуется соблюдение мер биологической безопасности и асептической техники взятия клинических образцов. Следует исходить из предположения, что все клинические образцы для анализа представляют собой потенциально инфекционный материал, обращаться с которым следует, соблюдая технику безопасности согласно ГОСТ Р 52905-2007.

Примечание: Тест-система не содержит материалов биологического происхождения, веществ, обладающих канцерогенным и мутагенным действиями, а также влияющими на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасной.

6. Оборудование и материалы

- Бокс биологической безопасности II – III класса (ЗАО «Ламинарные системы») или аналогичный;
- Холодильная (2 – 8) °С и морозильная минус (18 – 25) °С камеры;
- Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000 CFX96, C1000 Touch, с принадлежностями; № РУ ФСЗ 2008/03399, («Био-Рад» Лабораториз, Инк., США), или амплификатор детектирующий ДТпрайм 5М1; № РУ ФСР 2011/10229 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), или прибор для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени Rotor-Gene Q, с принадлежностями; № РУ ФСЗ 2010/07595 («КИАГЕН ГмбХ», Германия);

- Дозаторы автоматические или механические переменного объема на 2-20; 20-200; 100-1000 мкл;
- Наконечники одноразовые для дозаторов с фильтром объемом 0,5-10; 20; 200 и 1000 мкл;
- Пробирки одноразовые полипропиленовые градуированные объемом 1,5 мл или 2,0 мл («Ахуген», США) или аналогичного качества;
- Тонкостенные пробирки для ПЦР с плоской крышкой объемом 0,2 мл; пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 штук с прикрепленными плоскими крышками или планки для ПЦР на 96 лунок с пленкой для запаивания лунок («Ахуген», США) или аналогичного качества;
- Миницентрифуга-вортекс для микропробирок объемом 0,2 мл;
- Штатив для пробирок объемом 0,2 – 1,5 мл;
- Таймер-часы;
- Перчатки медицинские одноразовые неопудренные нитриловые или латексные, отдельный халат, нарукавники одноразовые.
- Приготовленный 1 % дезинфицирующий раствор «Мистраль», или аналогичного качества;
- Емкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- Компьютер с процессором частотой не ниже 133 МГц, оперативной памятью не менее 32 Мб, операционной системой не ниже Windows 95, программой Microsoft Office Excel версии не ниже Excel 97;
- Монитор с разрешением не менее 1024 × 768.

7. Материал для исследования

7.1 В качестве анализируемого материала используются мазки со слизистой оболочки носоглотки и задней стенки ротоглотки, или пробы нуклеиновых кислот (НК), выделенные с помощью медицинских изделий, зарегистрированных в установленном порядке в Российской Федерации, например: Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп», Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов «РеалБест Сорбитус (вариант 1×96).

7.2 Мазки со слизистой оболочки носоглотки и задней стенки ротоглотки, используются, предварительно хранившиеся в транспортной среде на основе физиологического раствора или натрий-фосфатного буфера (PBS).

Внимание! Не допускается использование мазков из носоглотки и ротоглотки, которые находились в транспортных средах, содержащих гуанидин.

7.3 Мазки из носоглотки и ротоглотки хранить до начала исследования в транспортной среде на основе физиологического раствора или натрий-фосфатного буфера (PBS) при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток или при температуре минус (18 – 24) °С не более 1 месяца.

7.4 Использовать пробы выделенных НК, которые хранились при температуре от 2 до 8 °С не более 1 суток.

7.5 Взятие биоматериала осуществляется в соответствии с МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» от 30.03.2020 (в редакции МР 3.1.0174-20 «Изменения № 1 в МР 3.1.0170-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», утвержденных Роспотребнадзором 30.04.2020). Каждый образец биоматериала помещают в отдельную транспортную емкость, обеспечивая требования в соответствии с таблицей методических рекомендаций.

7.6 Перед началом проведения анализа клинические образцы, хранившиеся в

холодильной/морозильной камерах, выдержать при температуре (18 – 26) °С в течение 10 - 30 мин и аккуратно перемешать.

7.7 Объем исследуемого материала должен составлять 5 мкл.

Внимание! Избегать повторных циклов замораживания – оттаивания клинических образцов.

8. Подготовка

8.1 Перед началом проведения анализа достать компоненты тест-системы из морозильной камеры, вскрыть упаковку, проверить на целостность упаковку, пробирки и срок годности компонентов. При обнаружении повреждений, нарушения целостности или истечения срока годности компоненты тест-системы следует утилизировать в соответствии с п. 12.3 настоящей инструкции.

Внимание! Изучите инструкцию перед началом работы.

8.2 Все компоненты тест-системы оставить при температуре (18 – 37) °С от 10 до 20 мин до полного размораживания.

8.3 Пробирки со всеми компонентами аккуратно перемешать и осадить капли с крышки кратким центрифугированием (500-10000 об/мин) в течение 3-5 сек.

Внимание! Компоненты после использования немедленно поместить на хранение в морозильную камеру при температуре минус (15 – 25) °С.

9. Проведение анализа ОТ-ПЦР

9.1 Анализ проводить в рабочей зоне 3 согласно МУ 1.3.2569-09.

9.2 Для проведения анализа необходимо заранее подготовить **термоциклер (амплификатор или прибор)** согласно инструкции по эксплуатации.

9.3 **Расчет реакционной смеси для проведения амплификации**

9.3.1 Использовать плашку для ПЦР на 96 лунок с пленкой для запаивания лунок или взять необходимое количество пробирок объемом 0,2 мл, равное суммарному количеству клинических образцов, плюс две пробирки (для ПКО и ОКО), итого N+2 пробирки. Пробирки поместить в штатив. В отдельной пробирке объемом 1,5 мл (до 49 образцов) или 2,0 мл (от 50 до 96 образцов) приготовить реакционную смесь (РС):

$5 \times (N+3)$ мкл компонента **ОТ-ПЦР** + $15 \times (N+3)$ мкл компонента **Праймеры**.

9.3.2 Расчет количества компонентов для тестирования клинических образцов приведен в таблице 2:

Количество компонентов

Таблица 2

Наименование компонента	Объем на один образец (без учета постановки ПКО и ОКО), мкл	Объем для анализа N образцов выделенной пробы нуклеиновых кислот (НК) (с учетом постановки ПКО и ОКО), мкл
ОТ-ПЦР	5,0	$(N + 3) \times 5,0$
Праймеры	15,0	$(N + 3) \times 15,0$

9.3.3 Перемешать РС 5-ти кратным переворачиванием пробирки, осадить кратковременным центрифугированием 500-10000 об/мин в течение 3-5 сек на вортексе или микроцентрифуге.

9.3.4 Внести по 20 мкл в пробирки для проведения ПЦР или лунки плашки для анализируемых образцов (АО) и в отдельные пробирки/лунки для ПКО и ОКО согласно таблице 3:

Таблица 3

№ этапа	Действие	Тип образца		
		АО	ОКО	ПКО
1	Внесение РС	20 мкл	20 мкл	20 мкл
2	Внесение АО	5 мкл	-	-
3	Внесение ОКО	-	5 мкл	-
4	Внесение ПКО	-	-	5 мкл

Примечание: расположение образцов в пробирках/стрипованных пробирках/ПЦР-плашке не имеет значения. Образцы АО, ОКО, ПКО можно располагать по усмотрению оператора.

9.3.5 Закрывать крышки пробирок, а в случае использования ПЦР-плашки заклеить пленкой. Перед постановкой в амплификатор осадить капли со стенок пробирок, используя вортекс (или в микроцентрифуге в течение 3-5 секунд при частоте вращения 2000 об/мин.).

9.4 Постановка реакции амплификации

9.4.1 Поместить подготовленные для проведения ПЦР пробирки в термоциклер (амплификатор или прибор).

9.4.2 В соответствии с инструкцией к прибору запрограммировать термоциклер (амплификатор или прибор) согласно таблице 4:

Протокол ОТ-ПЦР в реальном времени

Таблица 4

Шаг	Кол-во циклов	Температура	Время	Измерение флуоресценции
Обратная транскрипция	1	55 °C	10 мин	Нет
Начальная денатурация	1	95 °C	2 мин	Нет
Денатурация	5	95 °C	5 сек	Нет
Отжиг		60 °C	15 сек	Нет
Элонгация		67 °C	15 сек	Нет
Денатурация	40	95 °C	5 сек	Нет
Отжиг/Детекция по каналам: ROX, FAM		60 °C	15 сек	Да
Элонгация		67 °C	15 сек	Нет

9.4.5 Дать название эксперименту и сохранить его на диске (в этом файле будут автоматически сохранены результаты данного анализа).

9.5 Запустить термоциклер (амплификатор или прибор)

9.5.1 Перед началом анализа необходимо задать настройки в соответствии с инструкцией к оборудованию:

а) Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000 CFX96, C1000 Touch, с принадлежностями*:

– установить значение параметра пороговой линии («Single Threshold») – 50. При необходимости порог может быть изменен в диапазоне 25 – 500**;

– при необходимости допускается активация функций «Apply Fluorescence Drift Correction» и «Baseline Subtracted Curve fit».

б) Амплификатор детектирующий ДТпрайм.5М1*:

– установить «Метод» – «Пороговый (Ct)»;

– установить значение параметра пороговой линии 5 %, полученного для образца ПКО в последнем цикле амплификации. При необходимости порог может быть изменен в диапазоне 0 – 30%**.

в) Прибор для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени Rotor-Gene Q с принадлежностями***:

- установить значение параметра выбросов («NTC threshold/Порог Фона») – 5%. При необходимости порог фона может быть изменен в диапазоне 0 – 30 %**;
- установить значение параметра пороговой линии («Threshold/Порог») – 0,02. При необходимости порог может быть изменен в диапазоне 0,02 – 0,2**;
- при необходимости допускается активация функций «Dynamic tube/Динамич.фон» и «Slope Correct/Кор-рек. Уклона».

Примечание: * - В зависимости от установленной версии программного обеспечения названия команд могут несколько отличаться.** - Необходимость корректировки выбросов возникает в случаях сильных колебаний флуоресценции в отдельных пробах. *** - Для приборов «Rotor-Gene Q» перед запуском выбрать функцию: «Perform Calibration Before 1st Acquisition/Perform Optimization Before 1st Acquisition/Выполнить оптимизацию при 1-м шаге детекции». Для всех каналов установить параметры «Min Reading/Миним. Сигнал» – 5Fl и «Max Reading/Максим. Сигнал» – 10Fl.

9.5.2 Выбрать логарифмическую шкалу для отражения результатов и визуально проконтролировать пересечение пороговой линии в линейной части роста кривой амплификации. При пересечении пороговой линии с кривой амплификации не в линейном участке – переместить ее вручную до необходимого уровня.

9.5.3 Результаты анализа интерпретируются на основании наличия/отсутствия пересечения кривой флуоресценции с пороговой линией (что соответствует наличию/отсутствию значения порогового цикла Ct в соответствующей графе в таблице результатов).

10. Учет и интерпретация результатов ОТ-ПЦР

10.1 Интерпретировать результаты ПЦР-анализа исследуемых образцов в соответствии с таблицей 5:

Интерпретация результатов ПЦР

Таблица 5

Образец	FAM	ROX	
	Независимо от наличия РНК	Отсутствие РНК	Наличие РНК
ПКО	Ct ≤ 32	Ct 26 - 32	
ОКО	Ct ≤ 32	Ct ≥ 39	
АО	Не учитывается*	Отсутствие, либо слабый рост сигнала. Ct > 35	Нарастание сигнала. Ct ≤ 35

Примечание: * - наблюдается нарастание сигнала флуоресценции, при этом конкретная величина Ct не имеет значения.

Внимание! В случае получения невалидного результата необходимо провести повторный ПЦР-анализ соответствующей пробы клинического материала, начиная с этапа выделения РНК из проб клинического материала (технический повтор).

Внимание! В случае повторения аналогичного результата образец считать положительным. При получении отрицательного результата в повторной постановке образец считать сомнительным и рекомендовать повторное взятие материала для анализа (биологический повтор).

Внимание! Результаты ПЦР-анализа не могут быть единственным критерием, подтверждающим или исключающим факт инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2. Единичный отрицательный результат, особенно в случае исследования только образца из верхних дыхательных путей, не исключает инфекции. При тяжелом, прогрессирующем течении заболевания (COVID-19) необходимо взятие и обследование проб из нижних отделов легких.

11. Ограничения по использованию

11.1 Для получения корректных результатов необходимо строго следовать настоящей инструкции;

11.2 Следует использовать только **компоненты**, входящие в состав тест-системы;

11.3 Не использовать по истечении срока хранения;

11.4 Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортировке, подготовке и хранению образцов исследуемого материала, указанные в разделе 7 «Материал для исследования».

12. Хранение, транспортировка и утилизация

12.1 Условия хранения

Тест-систему необходимо хранить при температуре минус (15 – 25) °С и влажности от 10 до 95 % в месте, не допускающем проникновения света (в морозильных камерах).

Специальные требования к способу складирования отсутствуют.

Допускается заморозка/оттаивание компонентов тест-системы до 10 раз.

Срок годности тест-системы составляет 12 месяцев*.

*Примечание: срок годности установлен по результатам испытания методом «ускоренного хранения» и будет подтвержден испытаниями в режиме реального времени.

Тест-система с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

12.2 Условия транспортировки

Тест-систему необходимо перевозить с красными термоблоками, содержащими хладоэлементы ХТЛ-4 (ООО «Термологика») или аналогичными. Перевозка должна осуществляться следующими видами транспорта: воздушным, железнодорожным, морским, автомобильным и составлять не более 10 дней.

Тест-систему допускается также перевозить с синими термоблоками, содержащими хладоэлементы ХТЛ-3 (ООО «Термологика») или аналогичными. Перевозка должна осуществляться следующими видами транспорта: воздушным, железнодорожным, морским, автомобильным и составлять не более 5 дней.

При транспортировке необходимо соблюдать условия, обеспечивающие сохранность компонентов набора реагентов от механического повреждения, неблагоприятного воздействия температуры окружающей среды, воздействия солнечного света.

Внимание! Если реагенты прибыли незамороженными или упаковка повреждена, пожалуйста, свяжитесь с производителем ООО «СЛТ» (см. раздел 13).

12.3 Условия утилизации

При использовании тест-системы в КДЛ образуются отходы классов «А» и «Б», которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

Тест-системы, пришедшие в негодность, в том числе в связи с истечением срока годности, и неиспользованные реактивы относятся к классу «Б» и подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

Упаковка тест-системы после использования по назначению относится к отходам класса «А» и утилизируется с бытовыми отходами.

13. Гарантии производителя и сведения о рекламациях

13.1 Производитель гарантирует соответствие тест-системы требованиям технических условий при соблюдении условий транспортировки, хранения и

эксплуатации, установленных техническими условиями.

13.2 Срок годности тест-системы – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортировки, хранения и эксплуатации.

13.3 Безопасность и качество тест-системы гарантируется в течение всего срока годности.

13.4 Тест-система не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

13.5 При эксплуатации тест-системы отсутствуют следующие риски:

- инфекционные или микробные, в том числе возможность загрязнения расходных материалов инфекционными агентами человеческого происхождения;
- экологические, связанные с потенциально опасными материалами и веществами;
- физические, в том числе возможность взрыва или возгорания.

13.6 С техническими вопросами, связанными с качеством набора реагентов, а также в случае изменения аналитических характеристик следует обращаться к производителю ООО «СЛТ»: 630559, Россия, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, ул. Технопарковая, 1; тел: +7 (383) 309-2000 или 8 (800) 100-5-777; e-mail: info@3092000.ru.

13.7 При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, или уполномоченную государственную регулирующую организацию (Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) согласно действующему законодательству.

14. Разработчик

Общество с ограниченной ответственностью «СЛТ», Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, ул. Технопарковая, д. 8; помещение № А112, тел: +7 (383) 309-2000 или 8 (800) 100-5-777; веб сайт: www.QUBIOlab.ru; e-mail: info@3092000.ru.

15. Символы, применяемые для маркировки

Таблица 6

	Адрес производителя		Номер серии
	Для диагностики in vitro		Каталожный номер
	Дата изготовления		Количество реакций
	Срок годности		Беречь от влаги
	Перед использованием ознакомиться с инструкцией		Не использовать при поврежденной упаковке
	Условия хранения		Не допускать воздействия солнечного света

Прошито, пронумеровано и скреплено
печатью 12 листов (листа)
Должность: Директор ООО «СЛТ»
Фамилия И.О. Печковский Е.В.
Подпись _____
«30» марта 2022



Общество с ограниченной ответственностью
«Современные лабораторные технологии»

Адрес производства:
630559, Россия,
Новосибирская обл.,
р.п. Кольцово,
ул. Технопарковая, 1;
+7 (383) 309-2000;
8 (800) 100-5-777
info@3092000.ru
www.QUBIOlab.ru



УТВЕРЖДАЮ

Директор ООО «СЛТ»



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

контрольной панели образцов

«КПП-Direct-SARS-CoV-2-П/О»

серия 01

для проведения контроля качества

медицинского изделия для диагностики *in vitro*

«Тест-система для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2
в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени»

«QB-Direct-SARS-CoV-2»

по ТУ 21.20.23-004-75841125-2021

серия 211220

	Должность	ФИО	Подпись	Дата
Согласовали:	Технический директор	Р.В. Гуляев		20.12.2021
	Начальник ОБТК	Г.И. Сыровнев		20.12.2021
	Начальник производства реагентов	С.В. Лопухов		20.12.2021
Составил (изменил):	Начальник ООК	Ж.Б. Ибрагимова		20.12.2021

ООО «СЛТ»	Инструкция по применению КПП	КПП-Direct-SARS-CoV-2-П/О	Стр. 2 из 5
-----------	---------------------------------	---------------------------	-------------

1. Назначение

Для проведения контроля качества

Контрольная панель образцов «КПП-Direct-SARS-CoV-2-П/О» (далее по тексту КПП), предназначена для проведения контроля качества медицинского изделия для диагностики *in vitro* «Тест-система для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени» «QB-Direct-SARS-CoV-2» по ТУ 21.20.23-004-75841125-2021, серия 211220 (далее по тексту – Тест-система), производства ООО «Современные лабораторные технологии» методом, основанным на методе ОТ-ПЦР в режиме реального времени с детекцией генетического материала коронавируса SARS-CoV-2 с помощью гидролизуемых флуоресцентно-меченных гибридационных олигонуклеотидов после выделения РНК с конверсией комплементарной ДНК (далее - кДНК) SARS-CoV-2 и ее обнаружение путем амплификации высококонсервативного фрагмента гена N и кДНК внутреннего контрольного образца (ВКО). Контроль качества тест-системы проводится по параметрам предел обнаружения, специфичность и чувствительность в процессе производства с записью в паспорте качества на тест-систему.

2. Характеристика

2.1 КПП проверяют с помощью положительного стандартного образца «СПО-РНК-SARS-CoV2» (SARS-CoV-2 Standart, кат № COV019, от 28.02 2021, Bio-Rad, Exact Diagnostics LLC, США) - для образцов с 1 по 4.

2.2 Состав «КПП-Direct-SARS-CoV-2-П/О»:

В КПП входят 6 пробирок объемом 0,25 мл:

- образцы с №1 по №4 содержат искусственно синтезированную РНК участков генов N и ORF1ab коронавируса SARS-CoV-2 в различных концентрациях;
- образцы с №5 по №6 не содержат искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2;
- инструкция по применению;
- паспорт качества.

2.3 Характеристика образцов «КПП-Direct-SARS-CoV-2-П/О»

№ п.п.	Описание образца	Количество копий РНК на 1 мл образца
1	Положительный образец в транспортной среде, содержащий искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2	10 000 копий / мл
2	Положительный образец в транспортной среде, содержащий искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2	5 000 копий / мл
3	Положительный образец в транспортной среде, содержащий искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2	2 000 копий / мл
4	Положительный образец в транспортной среде, содержащий искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2	1 000 копий / мл
5	Отрицательный образец в транспортной среде, содержащий искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2	-
6	Отрицательный образец в транспортной среде, содержащий искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2	-

2.4 Образцы КПП представляют собой жидкости (прозрачные бесцветные) в объеме 0,2 мл.

2.5 Размороженные образцы КПП готовы для проведения анализа ОТ-ПЦР в реальном времени.

ООО «СЛТ»	Инструкция по применению КПП	КПП-Direct-SARS-CoV-2-П/О	Стр. 3 из 5
-----------	---------------------------------	---------------------------	-------------

3. Определение количества копий в образцах КПП

3.1 Определение количества копий в образцах КПП проводят с помощью положительного стандартного образца «СПО-РНК-SARS-CoV2».

3.2 Для образцов №1-№4 были наработаны ампликоны для определения мишеней N-гена и ORF1ab-гена с использованием плазмид с кДНК участка гена N консервативного относительно штаммов SARS-CoV-2 и участка гена ORF1ab (ЗАО «ЕВРОГЕН», Россия).

3.3 Далее ампликоны были очищены, была определена оптическая плотность при 260-280 нм с использованием спектрофотометра при определенных разведениях образцов. Из полученных данных были рассчитаны предполагаемые концентрации (число копий в единице объема) для образцов КПП с участками генов N и ORF1ab.

3.4 Был подготовлен специальный набор олигонуклеотидов для проведения ПЦР, содержащий:

а) пару праймеров и зонд с красителем ROX, специфичные для определенного участка N-гена;

б) пару праймеров и зонд с красителем ROX, специфичные для определенного участка ORF1ab-гена;

3.5 Для сравнения образцов КПП №1 по №4 со стандартными положительными образцами «СПО-РНК-SARS-CoV2» (Bio-Rad laboratories), содержащими 200 000 копий РНК гена N и 200000 копий РНК гена ORF1ab, соответствующих ампликонам, из данных образцов «СПО-РНК-SARS-CoV2» получили кДНК в количестве эквивалентном количеству исходных копий РНК в образцах «СПО-РНК-SARS-CoV2».

3.6 Далее была проведена амплификация с образцами КПП с ампликоном N-гена, образцами КПП с ампликоном ORF1ab-гена, образцами «СПО-РНК-SARS-CoV2» (гены N и ORF1ab), используя серию разведений (с учетом предварительно определенной в п. 3.4. концентрации ампликонов в образцах КПП) для построения калибровочной зависимости.

4. Аналитические и диагностические характеристики

4.1 Положительные образцы КПП с №1 по №4 должны содержать искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2 генов N и ORF1ab и должны быть определены, как положительные с помощью зарегистрированных медицинских изделий:

- Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени «РеалБест РНК SARS-CoV-2» по ТУ 21.20.23-106-23548172-2020, производства АО «Вектор-Бест», Россия, РУ № РЗН 2020/9896 от 27.03.2020 (далее по тексту - «РеалБест РНК SARS-CoV-2») – для образцов №1-№4;

- Отрицательные образцы КПП с №5 по №6 не должны содержать РНК SARS-CoV-2 и должны быть определены, как отрицательные, с помощью набора реагентов «РеалБест РНК SARS-CoV-2».

4. Меры предосторожности

4.1 При работе с набором реагентов и КПП соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.), методические указания МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» и СанПин 3.3686-21

ООО «СЛТ»	Инструкция по применению КРП	КРП-Direct-SARS-CoV-2-П/О	Стр. 4 из 5
-----------	---------------------------------	---------------------------	-------------

«Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные;
- 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;
- применять набор реагентов и КРП строго по назначению, согласно инструкций по применению;
- допускать к работе с набором реагентов и КРП только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами I-IV групп патогенности и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики.

- не использовать набор реагентов и КРП по истечении срока годности;

4.2 При работе с КРП использовать средства индивидуальной защиты.

4.3 Все использованные материалы, инструменты и оборудование, рабочие поверхности дезинфицировать в соответствии с требованиями СанПин 3.3686-21 и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.4 Инструменты и оборудование и рабочие поверхности обработать дезсредствами, разрешенными для применения на территории РФ, например, 1 % дезинфицирующим раствором Мистраль, или аналогичным.

4.5 Обеззараживание и/или обезвреживание и утилизацию всех образцов, компонентов и отходов контрольной панели производить в соответствии с разделом «Утилизация контрольной панели» настоящей инструкции по применению.

5. Оборудование и материалы

5.1 Оборудование и материалы, необходимые для проведения анализа, указаны в ТУ 21.20.23-007-75841125-2022 для медицинского изделия «Тест-система для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени» «QB-Direct-SARS-CoV-2» по ТУ 21.20.23-004-75841125-2021, серия 211220.

5.2 КРП необходимо использовать в соответствии с ТУ 21.20.23-004-75841125-2021 для медицинского изделия «Тест-система для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени» «QB-Direct-SARS-CoV-2» по ТУ 21.20.23-004-75841125-2021, серия 211220.

5.3 Медицинское изделие «Тест-система для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени» «QB-Direct-SARS-CoV-2» по ТУ 21.20.23-004-75841125-2021, серия 211220.

6. Анализируемые образцы

- образцы с №1 по №4 содержат искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2 в различных концентрациях;
- образцы с №5 по №6 не содержат искусственно синтезированную РНК коронавируса SARS-CoV-2;

ООО «СЛТ»	Инструкция по применению КРП	КРП-Direct-SARS-CoV-2-П/О	Стр. 5 из 5
-----------	---------------------------------	---------------------------	-------------

7. Проведение анализа

7.1 Подготовка к проведению анализа

7.1.1 Проверить наличие этикеток на пробирках с образцами КРП, целостность пробирок.

7.1.2 Записать в лабораторном журнале данные КРП из паспорта (название контрольной панели, номер серии, срок годности, номер образца). Необходимо вести учет расходования контрольной панели с указанием цели проводимых работ.

7.1.3 Разморозить образцы КРП при комнатной температуре в течение 30 минут.

ВНИМАНИЕ! Работать с образцами контрольной панели в асептических условиях с использованием поверенных автоматических дозаторов и одноразовых наконечников.

7.2 Проведение анализа

Провести анализ в соответствии с ТУ 21.20.23-004-75841125-2021 на медицинское изделие «Тест-система для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в клиническом материале методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени» «QB-Direct-SARS-CoV-2» по ТУ 21.20.23-004-75841125-2021, серия 211220.

8. Учет и интерпретация результатов анализа

8.1 Учет и интерпретацию результатов анализа проводить согласно ТУ 21.20.23-004-75841125-2021.

8.1.1 Тест-система должна определять образцы контрольной группы (№5-6), как отрицательные, то есть в образцах должна отсутствовать РНК SARS-CoV-2. Специфичность набора реагентов должна оставлять 100 %.

8.1.2 Тест-система должна выявлять РНК образцы контрольной группы (№1-6), как положительные. Предел обнаружения должен составлять $1,0 \times 10^3$ копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 в 1 мл анализируемого образца.

9. Утилизация контрольной панели

9.1 При использовании и утилизации КРП токсичные отходы не образуются.

9.2 Отходы, образующиеся при использовании и утилизации контрольной панели относить к классу Б.

9.3 Сбор, временное хранение, обеззараживание и/или обезвреживание и транспортирование отходов, образующихся при использовании и утилизации контрольной, проводить согласно СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

9.4 Использовать зарегистрированные в РФ дезинфектанты и оборудование для обеззараживания отходов в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» и в соответствии с их инструкциями.

9.5 Утилизировать отходы с помощью лицензированных организации на данный вид деятельности.

10. Срок годности. Условия хранения и транспортирования

Срок годности контрольной панели – 12 месяцев.

Образцы контрольной панели хранить и транспортировать при температуре от минус 40 до минус 70 °С в течение 12 месяцев.

Допускается однократная заморозка-разморозка образцов контрольной панели.

Прошито, пронумеровано и скреплено
печатью 6 листов (листа)

Должность: Директор ООО «СЛТ»
Фамилия И.О. Исаковский Е.В.

Подпись

« 30 » 10 20 22 г.

