

ЗАО «ЭКОлаб»
«31» 05
И

2022 г.

по применению

медицинского изделия для диагностики *in vitro*

Набор реагентов «КовидЭк Директ» для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени, серия 08

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «КовидЭк Директ» для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени, серия 08 предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в пробах клинического материала, полученных при взятии мазка из носа, носоглотки и/или ротоглотки человека (без предварительного выделения РНК), методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени.

Функциональное назначение набора реагентов «КовидЭк Директ» - диагностика инфекции, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2.

Набор предназначен для обследования всех групп населения любого возраста без градации по демографическому или популяционному признаку.

Полученные результаты анализа свидетельствуют о наличии/отсутствии РНК коронавируса SARS-CoV-2 в пробах клинического материала. Наличие РНК коронавируса SARS-CoV-2 в исследуемых образцах является основанием для постановки диагноза- коронавирусная инфекция COVID-19.

Для однократного применения набора по назначению.

Для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

Потенциальные потребители изделия

Набор реагентов предназначен только для профессионального использования в специализированных медицинских учреждениях, работа лабораторий которых обеспечена в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

Профессиональный уровень потенциальных пользователей

Для работы с набором реагентов сотрудники лаборатории должны иметь среднее или высшее образование (медицинское, биологическое, ветеринарное), прошедшие подготовку на лицензированных курсах по работе с микроорганизмами II группы патогенности и курсах повышения квалификации по молекулярно-биологической диагностике.

Показания к применению изделия.

Применение набора реагентов «КовидЭк Директ» показано:

- в качестве основного средства этиологической лабораторной 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.

Противопоказания

При использовании специально обученным персоналом и с учетом применения по назначению противопоказания не выявлены, за исключением

- Истекший срок годности набора реагентов
- Нарушение внутренней упаковки компонентов набора
- Внешний вид компонентов не соответствует их описанию в инструкции
- Ненадлежащие условия хранения и /или транспортирования набора реагентов

Описание целевого анализата, сведения о его научной обоснованности

COVID-19 является инфекционным заболеванием, вызванным новым коронавирусом SARS-CoV-2, который ранее не был обнаружен у людей.

Вирусная инфекция приводит к развитию респираторного гриппоподобного заболевания с такими симптомами, как кашель и лихорадка. В более тяжелых случаях может развиваться пневмония. Средний инкубационный период COVID-19 составляет 6,5 дня, но может варьироваться от 3 до 21 дней.

По данным текущего эпидемиологического исследования, инкубационный период составляет от 1 до 14 дней, в основном от 3 до 7 дней. Основные проявления включают потерю обоняния, утомляемость, жар и сухой кашель. В некоторых случаях обнаруживаются заложенность носа, насморк, боль в горле, миалгия и диарея.

На ранней стадии заболевания общее количество лейкоцитов в периферической крови в норме или снижено, а количество лимфоцитов уменьшено. У некоторых пациентов отмечалось повышение уровня ферментов печени, мышечных ферментов и миоглобина. СРБ и скорость оседания эритроцитов повышены у большинства пациентов, а прокальцитонин в то же время в норме. В тяжелых случаях количество D-димера увеличивается, а лимфоциты периферической крови постепенно уменьшаются. Нуклеиновую кислоту нового коронавируса SARS-CoV-2 можно обнаружить в мазках из горла, мокроте, секретах нижних дыхательных путей, крови и других образцах.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТАЦИЯ НАБОРА

Наименование компонента	Характеристика компонента	Количество
ОТ-ПЦР-реагент	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних включений	1 пробирка (0,5 мл)
Праймеры COVID-19	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних включений	1 пробирка (1,5 мл)
Положительный контрольный образец (ПКО)	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних включений	1 пробирка. (0,2 мл)
Отрицательный контрольный образец (ОКО)	Прозрачная бесцветная жидкость без посторонних вк	1 пробирка (1,0 мл)
Инструкция по применению		1 шт.

Примечания:

- 1) В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации (инструкции по применению).
 - 2) В составе изделия отсутствуют лекарственные средства и фармацевтические субстанции.
- Компоненты набора упакованы в коробку, в коробку вложена инструкция по применению

ОСНОВНЫЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов «КовидЭк Директ» рассчитан на проведение исследование 100 образцов, включая контрольные.

Методы стерилизации изделия

Изделие не требует стерилизации.

Программное обеспечение работы изделия

Отсутствует.

Техническое обслуживание и ремонт изделия

Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Метод исследования основан на реакции обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации к ДНК с одновременной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени.

Клинические образцы (мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки), помещенные в физиологический раствор, вносятся сразу (без этапа выделения РНК) в амплификационную смесь. Лизис вирусных частиц и их инаktivация происходят на этапе обратной транскрипции и первоначальной денатурации в ходе процесса амплификации. ОТ-ПЦР реагент содержит ряд энхансеров ПЦР, которые позволяют нивелировать действие ингибиторов, содержащихся в мазках.

РНК SARS-CoV-2 подвергается обратной транскрипции с помощью ревертазы. Участки полученной кДНК амплифицируют при помощи специфичных к данным участкам праймеров и фермента Taq-полимеразы. В состав реакционной смеси включены флуоресцентно-меченные олигонуклеотиды (ДНК-зонды). Данные ДНК-зонды, содержащие флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции, гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой к ДНК-мишени. При образовании специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, воздействие гасителя на флуоресцентную метку прекращается. В результате происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Количество разрушенных зондов увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов. Нарастающий уровень флуоресценции измеряется на каждом цикле амплификации. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации. Детекция флуоресцентного сигнала осуществляется непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени». В состав набора реагентов входит положительный контрольный образец (ПКО), представляющий собой MS2 фагоподобные частицы, содержащие фрагмент генома коронавируса SARS-CoV-2.

ИССЛЕДУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Анализируемые образцы для ОТ-ПЦР – **назо- и орофарингеальные мазки** (мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки) в транспортной среде (физиологическом растворе). Объем анализируемого образца для ОТ-ПЦР составляет **5 мкл**.

Забор, хранение и транспортирование клинического материала (мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки), взятого у пациентов для установления факта инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2, а также манипуляции с полученными образцами (обработка, хранение, транспортировка) регламентированы следующими документами:

- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» (Приложение 2 «Забор, предварительная обработка, хранение и перевозка материала на исследование»);

- письмом Роспотребнадзора от 21 января 2020 года N 02/706-2020-27 (Приложение 1 «Временные рекомендации по лабораторной диагностике новой коронавирусной инфекции, вызванной 2019-nCoV»);

- ВМР МЗ РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 12 (21.09.2021)

МР 3.1.0169-20 с изменением №1 "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.

Внимание! Пробы клинического материала, в отношении которого были выявлены нарушения требований данного раздела инструкции, считаются непригодными для исследования.

Сбор назофарингеальных мазков (мазков из носа, носоглотки)

Мазки (слизь) берут сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе (например, рекомендуемые к использованию МИ- Палочка-тампон с ватным намотом

медицинская стерильная, ООО «Емельянь Савостинь», Россия, РУ № РЗН 2015/2401). Тампон вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2–3 см до нижней раковины. Затем тампон слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с защелкивающейся крышкой, содержащую специальную транспортную среду (физраствор) (например, рекомендуемые к использованию МИ – Транспортная среда для биопроб STOP-Ф, фасовка S, пробирки; ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640), и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой.

Сбор орофарингеальных мазков (мазков из ротоглотки)

Мазки берут сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе (например, рекомендуемые к использованию МИ – Палочка-тампон с ватным намотом медицинская стерильная, ООО «Емельянь Савостинь», Россия, РУ № РЗН 2015/2401) вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку со специальной транспортной средой (физраствором) (например, рекомендуемые к использованию МИ – Транспортная среда для биопроб STOP-Ф, фасовка S, пробирки; ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640) и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой.

Условия хранения материала:

- при комнатной температуре — в течение 6 ч;
- при температуре 2–8 °С — в течение 3 суток;
- при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца;
- при температуре минус 70 °С — длительно.

Пробы клинического материала, хранившиеся в холодильнике/морозильнике, перед анализом прогреть до температуры (20 – 28) °С и аккуратно перемешать.

Избегать повторных циклов замораживания/оттаивания проб клинического материала.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

1. Аналитическая чувствительность (Предел обнаружения РНК коронавируса человека SARS-CoV-2) с использованием КОЧ (Контрольного образца чувствительности) составляет 1×10^3 геном-эквивалентов в 1 мл¹ анализируемого образца в реакции ОТ-ПЦР.

2. Специфичность набора реагентов: значение Ct по каналам «HEX» и «FAM» должны иметь значения меньше или равно 35 для «ПКО»; значение Ct по каналам «HEX» и «FAM» не должны определяться для «ОКО».

3. Аналитическая специфичность набора реагентов была определена посредством исследования образцов нуклеиновых кислот возбудителей респираторных инфекций: вирусы гриппа А и В, парагрипп, аденовирусная инфекция, респираторно-синцитиальная инфекция, метапневмовирусная инфекция, риновирусная инфекция и коронавирусная инфекция человека (MERS-CoV, HKU1, 229E, OC43, NL63, SARS-CoV), Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenza type B, Legionella pneumophila. Перекрестных реакций не выявлено.

4. Влияние интерферирующих веществ

Содержание муцина или цельной крови, назального спрея, стероидов для кожи носа, средств для снятия аллергических симптомов, противовирусных препаратов, антибиотиков в мазках из носа, носоглотки и/или ротоглотки не влияют на результат анализа

¹ «КОЧ КовидЭк Директ» аттестован относительно стандартного образца инактивированного штамма коронавируса SARS-CoV-2 «ГК2020/1», 1301/2 (Панель возбудителей респираторных инфекций, Кат.номер AA002, ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России)

Материал	Активный компонент	Заключение
Назальный спрей	Оксиметазолин 50% об/об, хлорид натрия (консервант)	Добавление мешающего вещества до соответствующей концентрации не оказало значительного влияния на результат теста.
Стероид для кожи носа	Беклометазон 2,5 мг/мл, флунизолид 10 мг/мл, триамцинолона ацетонид 10 мг/мл, мометазон 10 мг/мл, флутиказон 5 мг/мл	
Средства для снятия аллергических симптомов	Гистамина гидрохлорид 3 мг/мл	
Противовирусные препараты	Альфа-интерферон 1000 МЕ/мл, занамибир 5 мг/мл, рибавирин 142 нг/мл, осельтамивир 0,15 мг/мл, лопинавир 4 мкг/мл, ритонавир 1 мкг/мл	
Антибиотики	Левифлоксацин 0,1 г/мл, Азитромицин 0,25 г/мл	
Муцин (до 5% по объему)		
Цельная кровь (до 5% по объему)		

5. Воспроизводимость

Внутрисерийная воспроизводимость результатов определялась тестированием 3 положительных образцов, полученных внесением искусственного защищенного специфического фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2 с концентрацией $1,0 \cdot 10^3$ геном-эквивалентов/мл (КОЧ- контрольный образец чувствительности) в отрицательные образцы клинического материала в 20 повторах на наборах реагентов одной серии и составляет 100%.

Межсерийная воспроизводимость результатов определялась тестированием 3 положительных образцов, полученных внесением искусственного защищенного специфического фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2 с концентрацией $1,0 \cdot 10^3$ геном-эквивалентов/мл (КОЧ- контрольный образец чувствительности) в отрицательные образцы клинического материала в 20 повторах на наборах реагентов одной серии и составляет 100%.

Ограничения метода

При наличии мутаций в анализируемой области генома, вследствие ухудшения гибридизации праймеров или зондов с РНК и ДНК, могут наблюдаться ложноотрицательные реакции.

6. Диагностическая чувствительность выявления РНК коронавируса человека SARS-CoV-2 – 100% (250 положительных образцов, интервал 98,81%-100%, с доверительной вероятностью 95%).

7. Диагностическая специфичность Диагностическая специфичность выявления РНК коронавируса человека SARS-CoV-2 – 100% (300 отрицательных образцов, интервал 99,01%-100%, с доверительной вероятностью 95%).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению РНК SARS-CoV-2, обязаны обеспечивать безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

При работе с набором следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Согласно Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», утвержденных Минздравом России, версия 12 (21.09.2021), 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".

Согласно МР 3.1.0169-20, МР 3.1.02229-21 организация лабораторной диагностики COVID-19 осуществляется в соответствии с требованиями санитарного законодательства по работе с микроорганизмами II группы патогенности.

При работе с набором реагентов необходимо одновременно обеспечить и соблюдать персоналом правила биологической безопасности и требования к организации и проведению

работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб помещений и оборудования.

Требования к помещениям, оборудованию, расходным материалам.

Температура в помещениях лаборатории при проведении исследований должна быть от 20 до 28 °С, относительная влажность - от 15 до 75 %.

Исследования проводятся в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

Каждый этап анализа должен проводиться в специально выделенных рабочих зонах (помещениях). Лабораторный процесс должен быть однонаправленным (работу следует начинать в зоне (помещении) экстракции, продолжать в зонах (помещениях) амплификации и детекции).

Запрещается перемещать лабораторное оборудование, дозаторы, штативы, посуду, рабочую одежду, головные уборы и др. из одного помещения в другое.

Дозаторы и другое измерительное и дозирующее оборудование должны быть поверены и промаркированы.

При работе с РНК необходимо использовать микропробирки и наконечники, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free». Для манипуляций с набором реагентов, пробами клинического материала и анализируемыми образцами (пробами выделенной РНК) использовать одноразовые пробирки и наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером, одноразовые перчатки без талька.

Для каждой операции использовать новые наконечники с аэрозольным барьером.

Безопасность персонала

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 требованиями методических рекомендаций МР 3.1.0169-20.

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.

При работе использовать средства индивидуальной защиты (блузон, брюки, халат, шапочку, тапочки или сабо, очки защитные, полумаску, одноразовые неопудренные перчатки, нарукавники одноразовые).

Тщательно вымыть руки по окончании работы.

В случае приема внутрь компонентов набора реагентов немедленно обратиться за медицинской помощью.

Все реагенты, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными, вредного влияния на организм оператора не оказывают.

Набор реагентов не содержит материалы биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным и влияющим на репродуктивную функцию человека действием. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности набор реагентов безопасен.

Весь клинический материал является потенциально инфицированным, поэтому при работе с ним необходимо использовать индивидуальные средства защиты: лабораторные перчатки, лабораторные халаты, шапочку, очки защитные, полумаску, нарукавники одноразовые.

Сведения о дезинфекции и утилизации

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».

Все поверхности в лаборатории ежедневно подвергать влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СанПин 3.3686-21.

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

Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

Токсичные отходы не образуются в процессе использования и утилизации набора реагентов с истекшим сроком годности.

Отходы, образующиеся в процессе использования и утилизации набора реагентов с истекшим сроком годности, относить к классу Б.

Набор реагентов с истекшим сроком годности утилизировать как отходы класса Б.

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

Неиспользованные компоненты, компоненты с истекшим сроком годности, а также использованные компоненты, упаковку, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять 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".

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

Оборудование и материалы:

- Бокс биологической безопасности, ламинар II класса защиты
- амплификатор с детекцией результатов в режиме «реального времени» (CFX96 - Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, с принадлежностями, ООО «Био-Рад Лаборатории», Россия, РУ № ФСЗ 2008/03399; ДТ-96 – Амплификатор детектирующий ДТ-96, ООО «НПО ДНК-Технология» Россия, РУ № ФСР 2007/01250; QuantStudio 5 - Амплификатор нуклеиновых кислот Applied Biosystems QuantStudio 5 с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени, «Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.», Сингапур, РУ № РЗН 2019/8446; Rotor-Gene – Прибор для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени Rotor-Gene Q, с принадлежностями, «КИАГЕН ГмБХ», Германия, РУ № ФСЗ 2010/07595);
- оптические пробирки для ПЦР-РВ, адаптированные для используемого амплификатора;
- вортекс;
- набор дозаторов переменного объема (1-10 мкл, 10-100 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- одноразовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5–2,0 мл;
- штативы для пробирок и наконечников;
- холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников;
- комплект средств для обработки рабочего места.

Примечание * При работе с РНК необходимо использовать микропробирки и наконечники, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

1. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Выделение РНК из клинического материала не производится. Клинические образцы (мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки), помещенные в транспортную среду (физиологический раствор), вносятся сразу в амплификационную смесь.

Поступившие в лабораторию клинические образцы (мазки из носа, носоглотки и/или ротоглотки) подлежат обязательной инаktivации в зоне приема и регистрации материала (зона 1).

Для этого необходимо образцы тщательно перемешать на вортексе в течение 30 сек и осадить капли кратковременным центрифугированием.

Инаktivация проводится в зоне 1 (зона приема и регистрации материала) при температуре 70°C в течении 5 мин в термостате (например, твердотельный термостат «Термит» или «Гном», термошейкер, термостат ТС-1/80 СПУ).

После инаktivации образцов пробирки с мазками передаются в зону 2.

2. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

2.1. ПОДГОТОВКА ПЦР-СМЕСИ (в ПЦР-боксе)

0. Разморозить все реагенты (при необходимости), перемешать (перевернув пробирки несколько раз) и сбросить капли с помощью кратковременного центрифугирования.

I. В каждую постановку амплификации помимо исследуемых образцов (N) должны входить 2 контрольных образца: отрицательный контроль ПЦР (К-) и положительный контроль ПЦР (К+).

В пробирке объемом 1,5-2 мл приготовить «Мастер Микс»:

5*(N+1) мкл ОТ-ПЦР-реагента + 15*(N+1) мкл праймеров

Где N – общее количество реакций амплификации с учетом контрольных образцов.

II. Перемешать «Мастер Микс» путем 5-ти кратного переворачивания пробирки, осадить кратковременным центрифугированием и внести по 20 мкл в пробирки для проведения ПЦР.

В Ламинаре с защитой II А провести следующие процедуры:

III. В подготовленные пробирки добавить по 5 мкл исследуемых мазков.

IV. Поставить контрольные реакции амплификации:

1) К- – внести в пробирку 5 мкл ОКО;

2) К+ – внести в пробирку 5 мкл ПКО.

Герметично закрыть пробирки крышками. В случае наличия пузырьков в растворе или капель на стенках пробирок – удалить кратковременным центрифугированием.

2.2. ПОСТАНОВКА РЕАКЦИИ АМПЛИФИКАЦИИ

I. Поместить подготовленные для проведения ПЦР пробирки в амплификатор.

II. В соответствии с инструкцией к прибору запрограммировать амплификатор согласно таблице 2.

Таблица 2. Параметры амплификации

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

III. В соответствии с инструкцией к прибору запрограммировать положение пробирок в амплификаторе. Также допускается выполнять данный шаг во время проведения амплификации или по ее окончании, если это позволяет программное обеспечение прибора.

IV. Дать название эксперимента и сохранить его на диске (в этом файле будут автоматически сохранены результаты данного эксперимента). Запустить амплификатор*.

* Для приборов «Rotor-Gene» 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.

3. АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ

I. Перед началом анализа необходимо задать настройки в соответствии с инструкцией к прибору.

а) для приборов типа «Rotor-Gene»*:

– 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/Коррек. Уклона».

б) для приборов «Bio-Rad CFX96»*:

– 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».

в) для приборов «ДТ-96»*:

– 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%.**

г) для приборов «Quant Studio 5»*:

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

д) для прочих амплификаторов

* в зависимости от установленной версии программного обеспечения названия команд могут несколько отличаться.

** Необходимость корректировки выбросов возникает в случаях сильных колебаний флуоресценции в отдельных пробах.

Валидация набора реагентов прошла по всем заявляемым приборам.

II. 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.

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).

III. Удостовериться, что ПЦР-исследование валидно: контрольные точки анализа должны соответствовать значениям, приведенным в таблице 3.

Таблица 3. Оценка результатов анализа контрольных точек

Контрольная точка	Контролируемый этап анализа	Значение «Ct» по каналу FAM/Green	Значение «Ct» по каналу HEX/Yellow
ОКО	ПЦР	Не детектируется	Не детектируется
ПКО	ПЦР	≤ 35	≤ 35
ВКО	ПЦР	≤ 35	≤ 35

В случае несоответствия контрольных точек ОКО и ПКО необходимо провести повторное исследование всех образцов начиная со стадии постановки ПЦР.

IV. Интерпретировать результаты ПЦР-анализа исследуемых образцов в соответствии с таблицей 4.

Таблица 4. Таблица интерпретации результатов образцов

Результат образца	Значение «Ct» по каналу FAM/Green	Значение «Ct» по каналу HEX/Yellow
Положительный	+/-	≤ 33
Сомнительный	+/-	33–35
Отрицательный	+	> 35 или отсутствует
Не валидный	–	–

«–» обозначает отсутствие значения «Ct», график амплификации не пересекает пороговую линию

«+» обозначает наличие значения «Ct», график амплификации пересекает пороговую

инию

«+/-» – значение «Ct» для данного канала не анализируется

В случае сомнительного или не валидного результата требуется повторно провести ПЦР-исследование соответствующего образца, начиная с этапа внесения образцов клинического материала в ПЦР-смесь или со стадии забора материала у пациента.

Повторный сомнительный результат считается отрицательным и не требует перестановки. Повторный не валидный результат свидетельствует о некачественном отборе клинического материала и требует перепостановки, начиная с этапа отбора клинического материала.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ ПО ТРАНСПОРТНЫМ СРЕДАМ

Во избежание ингибирования ПЦР интерферирующими веществами, содержащимися в коммерческих транспортных средах (например, гуанидина тиоционатом), производитель рекомендует при работе с набором реагентов «КовидЭк Директ» использовать транспортную среду (физиологический раствор).

СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора реагентов «КовидЭк Директ» – 12 месяцев с даты изготовления. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ

Хранение

Хранение наборов должно осуществляться в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, в упаковке предприятия изготовителя при температуре от -24°C до -16°C в течение всего срока годности.

После вскрытия упаковок неиспользованные реагенты допускается хранить в плотно закрытых упаковках в морозильных камерах или морозильниках, обеспечивающих регламентируемый температурный режим, при температуре от -24°C до -16°C до истечения срока годности. Допускается заморозка/оттаивание компонентов набора реагентов до 10 раз.

Транспортирование

При температуре от 2°C до 8°C транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, в течение 30 суток. Допускается транспортирование при температуре окружающей среды, но не выше 37°C в течение 5 суток.

УСЛОВИЯ ОТПУСКА

Для учреждений здравоохранения.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Набор реагентов «КовидЭк Директ» для качественного выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в назо- и орофарингеальных мазках методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени, серия 08 соответствует ТУ 21.20.23-132-70423725-2021 с изм. №1, №2, №3, №4, №5 Национальным стандартам РФ и нормативным документам в части требований безопасности и эффективности.

По вопросам, касающимся качества и обращения набора реагентов «КовидЭк Директ», следует обращаться по адресу 142530 Московская обл., г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1, 1а, Закрытое Акционерное Общество «ЭКОлаб» (ЗАО «ЭКОлаб»); тел. 8 (49643) 3-23-11, 3-30-93, тел/факс 8(49643) 3-30-85, 8 (800) 333-33-47, ekolab-sekretar@mail.ru.

При предъявлении рекламации по поводу несоответствия физических и специфических характеристик набора реагентов заявленным для проведения объективного расследования производителем причин несоответствия потребитель должен предоставить:

1. набор реагентов той серии, на которую предъявляется рекламация;
2. все спорные исследуемые образцы пациентов;
3. протоколы анализа с указанием наименования, серии и сроков годности использованного набора реагентов;

протоколы исследования с использованием других методов/наборов реагентов с указанием серии, сроков годности, производителя примененных наборов реагентов.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА УПАКОВКЕ И ЭТИКЕТКАХ

IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Осторожно!
	Предел температуры

Директор ЗАО "ЭКОлаб" по научной работе

С.Г. Марданлы

«СОГЛАСОВАНО»

Генеральный директор

ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»

« 31 » 05 2022 г.

П.К. Варнавичус



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 71 ЛИСТОВ

«31» 05 2022 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

Прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью

71 лист 06
Ген. директор ЗАО "ЭКОлаб"
Гашенко Т.Ю.
«31» 05 2022 г.