

ООО «МЕДИПАЛТЕХ»
Россия, Московская область, г. Дубна

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «МЕДИПАЛТЕХ»



Мануйлов ВА

23 » марта 2020 г

дата подписи

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2
в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)
с гибридизационно-флуоресцентной детекцией
«SARS-CoV-2-ПЦР»

по ТУ 21.20.23-002-28597318-2020

Регистрационное удостоверение № _____

Набор реагентов «SARS-CoV-2-ПЦР» выпускается в двух вариантах исполнения:

Кат. № МТ-ПЭ-С1-01.96

Вариант 1. Набор реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ-экстракция», 96 тестов, в составе:

1. комплект для проведения ОТ-ПЦР «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ»,
2. комплект для экстракции РНК «РНК-преп-М»

Инструкция по применению.

Паспорт.

Кат. № МТ-П-С1-01.96

Вариант 2. Набор реагентов для обратной транскрипции и амплификации РНК вируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ», 96 тестов, в составе:

1. комплект для проведения ОТ-ПЦР «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ»

Инструкция по применению.

Паспорт.

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы.

СОДЕРЖАНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	3
2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА	3
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	6
4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	7
5. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	9
6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	9
7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	12
8. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ	13
9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	13
10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ	17
11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	18
12. УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	19
13. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	19
14. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА	20
15. РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	21
16. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	21
17. АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	21
18. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	22
ПРИЛОЖЕНИЕ А. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ПЦР	23

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в
биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с
гибридизационно-флуоресцентной детекцией
«SARS-CoV-2-ПЦР»

(кат. №№ МТ-ПЭ-С1-01.96, МТ-П-С1-01.96)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Набор реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «SARS-CoV-2-ПЦР» предназначен для выявления РНК возбудителя коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2) in vitro методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) в биологическом материале человека (мазки из полости носа и ротоглотки).

1.2 Набор может быть использован в клинично-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Принцип действия

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.

В наборе реагентов «SARS-CoV-2-ПЦР» используется внутренний контрольный образец (ВК), предназначенный для контроля прохождения полимеразной цепной реакции.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых несет 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) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продуктов амплификации искомой кДНК и внутреннего контрольного образца, включены флуоресцентные метки Cy5 и Fam соответственно, что позволяет отдельно регистрировать результаты амплификации кДНК вируса SARS-CoV-2 и внутреннего контрольного образца (таблица 1).

Таблица 1- Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy 5
РНК ВК	-	-	РНК SARS-CoV-2

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

Исследование с использованием набора реагентов «SARS-CoV-2-ПЦР» состоит из следующих этапов: выделение РНК (пробоподготовка), реакция обратной транскрипции, ПЦР-амплификация кДНК с детекцией сигнала в режиме реального времени.

Полная форма набора содержит в составе комплект для экстракции РНК сорбентным методом с магнитной сепарацией. Принцип проведения экстракции РНК основан на обработке исследуемого образца лизирующим раствором, связывании РНК с частицами

магнитного сорбента, проведении серии отмывок сорбента путем смены растворов и элюции (высвобождения) РНК в соответствующий буфер.

2.2. Прослеживаемость значений ПК

Концентрацию положительного контроля (ПК) определяют стандартизированной методикой прямого измерения концентраций контрольных образцов на основе генно-модифицированных конструкций с использованием метода лимитирующих разведений.

Последовательность генно-инженерной конструкции ПК основана на фрагменте референсной последовательности штамма SARS-CoV-2 (isolate Wuhan-Hu-1, NCBI Reference Sequence: NC_045512.2).

Прослеживаемость значений ПК была определена на основе ГОСТ ISO 17511-2011 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Измерение величин в биологических пробах. Метрологическая прослеживаемость значений, приписанных калибраторам и контрольным материалам.

Для определения прослеживаемости препарат ПК трех различных серий с начальной концентрацией $(0,5-5) \times 10^4$ копий/мл подвергался ускоренному старению в течение 30 дней по методике, описанной в ГОСТ Р ИСО 23640-2015 «Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*». В качестве эталонного образца использовали ПК свежего приготовления из тех же серий.

Оба препарата ПК из всех серий (эталонный и после ускоренного старения) подвергали анализу с использованием набора реагентов SARS-CoV-2-ПЦР по процедуре, описанной в разд. 9 настоящей инструкции, и с использованием оборудования, указанного в разд. 6 настоящей инструкции. Результаты измеренной концентрации ПК сравнивали между собой. По результатам испытаний подготовлен отчет инв. № МТ-ПЭ-С1-01.96-ПК-004 от 20.03.2020 г.

Коэффициент вариации измерений аттестованного значения концентраций ПК составляет 5% (с уровнем доверительной вероятности 95%).

2.3 Состав набора

Набор реагентов «SARS-CoV-2-ПЦР» выпускается в двух вариантах исполнения:

Кат. № МТ-ПЭ-С1-01.96

Вариант 1. Набор реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ-экстракция», 96 тестов, в составе:

1. комплект для проведения ОТ-ПЦР «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ»,
2. комплект для экстракции РНК «РНК-преп-М»

Кат. № МТ-П-С1-01.96

Вариант 2. Набор реагентов для обратной транскрипции и амплификации РНК вируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ», 96 тестов, в составе:

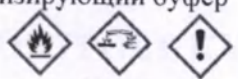
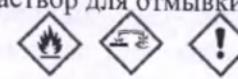
1. комплект для проведения ОТ-ПЦР «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ»

Комплект для проведения ОТ-ПЦР «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ» включает:

Компонент	Номинальный объем, мл	Количество	Описание
ПЦР-смесь SARS-CoV-2	0,960	1 пробирка	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ Прозрачная жидкость
ОТ-буфер	0,480	1 пробирка	Буферный раствор с сульфатом магния Прозрачная жидкость
Смесь ферментов	0,048	1 пробирка	Раствор с термостабильной ДНК-полимеразой и обратной ревертазой Прозрачная жидкость
Внутренний контроль (ВК)	0,960	1 пробирка	Раствор, содержащий генно- инженерную конструкцию с синтетическим фрагментом РНК Прозрачная жидкость
Положительный контроль (ПК)	1,000	1 пробирка	Раствор, содержащий генно- инженерную конструкцию с фрагментом кДНК SARS-CoV-2 Прозрачная жидкость
Отрицательный контроль (ОК)	1,000	1 пробирка	Прозрачная жидкость

Комплект реагентов рассчитан на проведение 96 реакций обратной транскрипции и амплификации, включая контроли.

Комплект для экстракции РНК «РНК-преп-М» включает:

Компонент	Номинальный объем, мл	Количество	Описание
Лизирующий буфер ¹  Опасно	48,0	1 флакон	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость
Стабилизатор РНК	0,96	1 пробирка	Вспомогательный реагент для проведения лизиса. Прозрачная жидкость
Магнетизированная силика	0,96	1 пробирка	Сорбент (магнетизированная силика). Суспензия
Раствор для отмывки ¹  Опасно	68,0	2 флакона	Раствор для отмывки РНК. Прозрачная жидкость.
Раствор для элюции	101,0	1 флакон	Раствор для элюции РНК. Прозрачная жидкость

Комплект реагентов рассчитан на проведение экстракции РНК из 96 исследуемых и контрольных образцов.

¹ Реагенты содержат опасные вещества, информацию по которым, а также меры предосторожности при работе с ними см. в разделе инструкции «Меры предосторожности».

В состав набора входят готовые к применению реагенты.

В состав ПЦР-смеси SARS-CoV-2 входят:

- Смесь специфических олигонуклеотидных праймеров
- Смесь специфических флуоресцентно-меченых олигонуклеотидных зондов
- Смесь dNTP
- Трис (гидроксиметил)-аминометан pH $8,0 \pm 0,5$
- ЭДТА
- Азид натрия

В состав Внутреннего контроля (ВК) входят:

- Искусственно синтезированная последовательность внутреннего контроля
- Трис (гидроксиметил)-аминометан pH $8,0 \pm 0,3$
- ЭДТА
- Азид натрия

В состав Положительного контроля (ПК) входят:

- Искусственно синтезированные последовательности выявляемых микроорганизмов
- Трис (гидроксиметил)-аминометан pH $8,0 \pm 0,3$
- ЭДТА
- Азид натрия

В состав Отрицательного контроля (ВК) входят:

- Трис (гидроксиметил)-аминометан pH $8,0 \pm 0,3$
- ЭДТА
- Азид натрия

К набору реагентов прилагается инструкция по применению и паспорт.

2.4 Время проведения анализа (с учётом пробоподготовки) – 5 часов.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

3.1. Отрицательный и положительный контроли исследования

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых образцов и каждая индивидуальная постановка ПЦР должны включать контрольные образцы: отрицательный контроль (ОК), положительный контроль (ПК). Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности. В случае получения невалидных результатов для контроля/контролей, не может быть гарантировано соответствие полученных результатов выявления заявленным аналитическим характеристикам, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, требуется повторить исследование всех исследуемых образцов и контролей, начиная с этапа экстракции.

3.2. Контроль ингибирования

Для контроля всех этапов исследования, эффективности экстракции РНК и оценки влияния ингибиторов ПЦР предусмотрено использование внутреннего контроля (ВК), который добавляется в каждый исследуемый и контрольный образец на этапе экстракции РНК. Результаты исследования ВК должны соответствовать заданным критериям валидности. В случае получения невалидного результата для ВК, не может быть

гарантировано соответствие полученных результатов выявления для данного образца заявленным аналитическим характеристикам. Если в исследуемых образцах не обнаружена РНК SARS-CoV-2 и не обнаружена РНК внутреннего контроля (ВК), то результаты исследования данных образцов считаются недостоверными, требуется повторить их анализ, начиная с этапа экстракции. В исследуемых образцах, в которых обнаружена РНК SARS-CoV-2, допускается наличие или отсутствие РНК ВК.

3.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Рекомендуется раз в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами. Оценка наличия/отсутствия контаминации проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. Взятие и исследование смывов следует проводить согласно процедуре, описанной в МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

4. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

4.1 Аналитическая специфичность

В образцах биологического материала, содержащих РНК возбудителя коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2), во время проведения амплификации, детектирующий амплификатор должен регистрировать положительные результаты амплификации специфических фрагментов кДНК (экспоненциальный рост кривой флуоресценции по каналу Cy5).

В образцах биологического материала, не содержащих РНК возбудителя коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2), при проведении амплификации, регистрируется положительный результат амплификации внутреннего контроля (экспоненциальный рост кривой флуоресценции по каналу Fam) и отрицательный результат амплификации специфических фрагментов кДНК (отсутствие экспоненциального роста кривой флуоресценции по каналу Cy5).

Аналитическая специфичность набора реагентов, т.е. способность выявлять только РНК SARS-CoV-2 вне зависимости от присутствия в анализируемом образце НК других возбудителей, доказана при исследовании РНК и ДНК следующих микроорганизмов: Influenza A virus, Influenza B virus, Human respirovirus 1, Human respirovirus 3, Human rhinovirus, Metapneumovirus, Streptococcus pneumoniae, Legionella pneumophila и Haemophilus influenzae type B, а также геномной ДНК человека.

Ложноположительные и ложноотрицательные результаты выявлены не были. Специфичность, рассчитанная как частота ложноположительных результатов для отрицательных проб на целевой маркер, составляет 100%.

4.2 Предел обнаружения (аналитическая чувствительность)

Предел обнаружения набора – 1000 копий/мл (500 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца).

4.3. Прецизионность измерения

Внутрисерийная воспроизводимость набора составляет 100%.²

4.4. Оценка потенциально интерферирующих веществ

Влияние потенциально интерферирующих веществ на результат ПЦР с использованием набора реагентов SARS-CoV-2-ПЦР было изучено на модельных образцах клинического материала (мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки).

Для оценки влияния экзогенных и эндогенных потенциально интерферирующих веществ были протестированы мазки из полости носа и ротоглотки от «условно здоровых» лиц без признаков ОРВИ без добавления потенциально интерферирующих веществ – гемоглобина (200 мкг/мл), муцина (5%); и с добавлением экзогенных потенциально интерферирующих веществ, таких как водный раствор хлоргексидина (0,5%), раствор Люголя с глицерином (0,1%) и Мирамистина (0,001%)

Заключение о влиянии потенциально интерферирующих веществ на результат ПЦР выносилось на основании результатов статистической обработки полученных данных. Учитывали коэффициент вариации (CV, %) значений пороговых циклов (Ct), полученных по всем каналам детекции (Fam, Cy5), испытуемых образцов, а также вычисляли разницу средних значений пороговых циклов ($\Delta Ct_{ср.}$), полученных по всем каналам детекции (Fam, Cy5), между контрольными и испытуемыми образцами. При значении CV менее 10% и $\Delta Ct_{ср.}$ менее 1,5 циклов делали вывод об отсутствии влияния потенциально интерферирующих веществ на результат ПЦР.

Исследовали два типа (отрицательные и положительные) модельных образцов (контрольные и испытуемые).

1. Модельный (отрицательный) контрольный образец представлял собой пробу клинического материала (мазок со слизистой оболочки ротоглотки) объемом 100 мкл.

2. Модельный (отрицательный + ингибитор) испытуемый образец готовили путем растворения исследуемого интерферента в необходимой концентрации в 100 мкл пробы клинического материала (мазок со слизистой оболочки ротоглотки). Конечные концентрации интерферентов указаны в таблице:

Вид биологического материала	Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Протестированная концентрация в образце	Наличие интерференции
мазки из полости носа и ротоглотки	Эндогенные вещества	Гемоглобин	200 мкг/мл	не обнаружено
		Муцин	5 %	не обнаружено
	Экзогенные вещества	Хлоргексидин	0,5 %	не обнаружено
		Стоматофит®	1,5 %	не обнаружено
		Мирамистин®	0,001 %	не обнаружено
		раствор Люголя с глицерином	0,5 %	не обнаружено

3. Модельный (положительный) контрольный образец представлял собой пробу клинического материала (мазок со слизистой оболочки ротоглотки), с добавлением 10 мкл ПК SARS-CoV-2. Конечная концентрация ПК в образце - $(0,5-5) \times 10^4$ копий/мл. Общий объем образца - 100 мкл.

² Сведения о межсерийной воспроизводимости изделия будут представлены после выпуска нескольких серий изделия.

4. Модельный (положительный + ингибитор) испытуемый образец готовили путем смешивания пробы клинического материала (мазок со слизистой оболочки ротоглотки) и добавления 10 мкл ПК SARS-CoV-2 и интерферента. Конечная концентрация ПК в образце - $(0,5-5) \times 10^4$ копий/мл. Конечная концентрация интерферента в образце – см таблицу. Общий объем образца - 100 мкл.

Вывод: При оценке влияния экзогенных и эндогенных потенциально интерферирующих веществ на мазках со слизистой оболочки носо- и ротоглотки – гемоглобина (200 мкг/мл), муцина (5%), как водного раствора хлоргексидина (0,5%), раствора Люголя с глицерином (0,1%) и Мирамистина (0,001%) ингибирование не обнаружено.

5. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

5.1. Диагностическая чувствительность

Диагностическую чувствительность определяли при исследовании 20 образцов мазков из полости носа и ротоглотки, в которые вносили инактивированный вирус SARS-CoV-2 в концентрации 103 ГЭ/мл.

Доверительный интервал (ДИ) = 95 %

Диагностическая чувствительность набора реагентов 100,0% (95% ДИ: 83,9-100).

5.2. Диагностическая специфичность

Диагностическую специфичность определяли при исследовании 20 образцов мазков из полости носа и ротоглотки от людей без признаков ОРВИ.

Доверительный интервал (ДИ) = 95 %

Диагностическая специфичность набора реагентов 100,0% (95% ДИ: 83,9-100).

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – 3 класс.

Общие требования безопасности к наборам реагентов для *in vitro* диагностики в соответствии с ГОСТ ISO 14971-2011. 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 СП 1.3.3118-13 Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности).

Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором следует использовать одноразовые перчатки без талька.

К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории.

Выделение РНК следует проводить в ламинарных шкафах с включенным ламинарным потоком. Подготовку к ПЦР с использованием набора реагентов следует проводить в ПЦР-боксах.

Все лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

Дозаторы должны быть соответствующим образом проверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Удалять отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации.

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СП 1.3.3118-13.

При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

Не допускается использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора;
- по истечению срока годности.

Набор реагентов не содержит материалы биологического происхождения, вещества, обладающие канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющие на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

Входящие в состав набора лизирующий буфер и раствор для отмывки классифицируются как опасные. Коды заявлений об опасности и мер предосторожности, требуемых при работе с данными реагентами, приведены в таблице 2. Расшифровка кодов представлена в таблице 3.

Таблица 2

Реагент	Код заявления об опасности	Код меры предосторожности
Лизирующий буфер	H225, H302, H314, H319, H332, H336, H412, EUH032	P210, P241, P242, P243, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338, P332+P313, P337+P313, P363, P370+P378, P403+P233, P501
Раствор для отмывки	H225, H302, H314, H319, H332, H336, H412, EUH032	P210, P241, P242, P243, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338, P332+P313, P337+P313, P363, P370+P378, P403+P233, P501

Таблица 3

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси.	H332: Вредно при вдыхании.
H302: Вредно при проглатывании.	H336: Может вызывать сонливость или головокружение.
H314: При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги.	H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.
H319: При попадании в глаза вызывает серьёзное раздражение.	EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Меры предосторожности	
P210: Беречь от источников воспламенения/нагрева/искр/открытого огня. Не курить.	P304+P340+P312: ПРИ ВДЫХАНИИ: Свежий воздух, покой. Обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии.
P241: Использовать взрывобезопасное оборудование и освещение.	P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз снять их и продолжить промывание водой.
P242: Использовать искробезопасные инструменты.	P332+P313: При раздражении кожи: обратиться за медицинской консультацией.
P243: Беречь от статического электричества.	P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией.
P261: Избегать вдыхания паров.	P363: Перед повторным использованием выстирать загрязнённую одежду.
P264: Вымыть тщательно руки после работы.	P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения.
P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.	P403+P233: Хранить в хорошо вентилируемом месте в плотно закрытой упаковке.
P271: Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении.	P501: Утилизировать содержимое в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.
P273: Избегать попадания в окружающую среду.	
P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства защиты глаз.	
P301+P330+P331: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополоскать рот. Не вызывать рвоту!	
P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязнённую одежду. Промыть кожу водой или принять душ.	

7. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

7.1 При проведении ПЦР с использованием комплекта для проведения ОТ-ПЦР «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ» требуются следующие оборудование и материалы:

1. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс) 2-го класса защиты;
2. Центрифуга-вортекс на 1500 – 3000 об/мин (например Центрифуга-вортекс Micro-Spin FV-2400, BioSan, Латвия);
3. Автоматические дозаторы переменного объема (от 5 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл).
4. Одноразовые наконечники с фильтром до 10, 100, 200 мкл в штативах;
5. Одноразовые пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской (для приборов роторного типа) или оптически прозрачной плоской/выпуклой (для приборов планшетного типа) крышкой;
6. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,5 мл (в соответствии с используемыми комплектами реагентов);
7. Холодильник от -2 до 8 °C с морозильной камерой не выше минус 16 °C для выделенных проб кДНК;
8. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09;
9. Емкость для сброса наконечников;
10. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» роторного типа (например, CFX96, Bio-Rad, США).
11. Для подготовки образцов РНК использовать комплект для экстракции РНК «РНК-преп-М» из состава набора реагентов «SARS-CoV-2-ПЦР».

7.2 При проведении экстракции РНК с использованием комплекта «РНК-преп-М»:

1. бокс микробиологической безопасности класс II (тип А);
2. вортекс на 1500 – 3000 об/мин (например, центрифуга-вортекс Micro-Spin FV-2400, BioSan, Латвия));
3. микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10000 x g при проведении экстракции с использованием центрифугирования (например, производства Eppendorf, Германия);
4. термостат для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с возможностью нагрева не менее чем до 80 °C;
5. вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой;
6. дозаторы переменного объема, механические или электронные;
7. штатив для пробирок объемом 1,5 мл;
8. магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл при проведении экстракции с использованием магнитного штатива;
9. холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 до 8 °C;
10. микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл с крышками, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз;
11. наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 100, 200 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз;
12. наконечники для дозаторов переменного объема, без фильтра, объемом до 200 мкл, одноразовые;
13. ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов;
14. перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.

8. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для исследования используют биологический материал, включая клинический: мазки из полости носа и ротоглотки.

8.1 Общие требования

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» и МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

Для забора материала используют сухие ватные тампоны или зонды. Взятые пробы помещают в пробирки, преднаполненные транспортной средой. Требования к забору и транспортировке материала содержатся в нормативных документах:

1. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 4 от 27.03.2020 г.

2. Временные рекомендации по организации лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV) (письмо Роспотребнадзора от 21 января 2020 года N 02/706-2020-27)

3. Инструкция об организации работы по диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-19) (письмо Роспотребнадзора от 18.03.2020 №02/4457-2020-27).

Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение и транспортирование.

Исследование методом ПЦР относится к прямым методам лабораторного исследования, поэтому взятие биологического материала необходимо проводить из места локализации инфекционного процесса.

8.2 Транспортирование и хранение исследуемого материала

ВНИМАНИЕ! Время от взятия материала до начала исследования не должно превышать 24 часов.

Транспортировать и хранить образцы до начала исследования необходимо при температуре от 2 °С до 8 °С.

В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала.

9. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

9.1 Подготовка материала к выделению РНК

9.1.1 Мазки из полости носа и ротоглотки.

Содержимое закрытой пробирки перемешать на вортексе и центрифугировать в течение 5 с при 5 тыс об/мин на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки пробирки. Для экстракции РНК отбирают 100 мкл образца.

При использовании набора реагентов для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ-экстракция» обработка клинического материала (мазки из носоглотки и ротоглотки) для экспрессного выделения РНК, а также его хранение производится согласно данной инструкции (п. 9.2).

При использовании набора реагентов для обратной транскрипции и амплификации РНК вируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ» для подготовки образцов РНК использовать наборы реагентов для пробоподготовки «ПРОБА-НК» (ФСР 2008/02938) или «РИБО-преп» (РЗН 2019/8475). В случае использования данных наборов для выделения РНК необходимо при экстракции вместе с исследуемым образцом внести 10 мкл восстановленного ВК (п. 9.2.1.4) из набора реагентов «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ». Анализ полученного препарата РНК проводить с п. 9.3. Также необходимо провести процедуру экстракции РНК с контрольными образцами ПК и ОК согласно инструкции к используемому набору реагентов.

9.2 Выделение РНК из биологического материала с использованием комплекта «РНК-преп-М»

9.2.1 Подготовка реагентов к работе

9.2.1.1 Перемешать взбалтыванием реагенты во флаконах.

9.2.1.2 Перемешать Стабилизатор РНК, ВК, ПК, ОК и осадить капли на вортексе.

9.2.1.3 Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с Магнетизированной силикой на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования).

9.2.1.4 Приготовить в отдельной пробирке смесь Стабилизатора РНК, Магнетизированной силики и ВК, добавив компоненты в объёмах согласно таблице 4, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь на вортексе.

Таблица 4 - Объёмы реагентов, используемые для одного образца

Реагент	Объём для одного образца, мкл
Стабилизатор РНК	10
Магнетизированная силика	10
ВК	10

Примечание: допускается внесение всего содержимого пробирок с Стабилизатором РНК, Магнетизированной силикой и ВК в Лизирующий буфер. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием, хранить не более месяца при температуре от 2 до 8 °С.

9.2.2 Экстракция с использованием магнитного штатива

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром.

9.2.2.1 Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объёмом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (ПК, ОК) образцов.

9.2.2.2 Внести в каждую промаркированную пробирку:

- по 30 мкл подготовленной смеси ВК, Стабилизатора РНК, Магнетизированной силики и по 500 мкл Лизирующего буфера,

или

- по 530 мкл подготовленной смеси ВК, Стабилизатора РНК, Магнетизированной силики и Лизирующего буфера.

9.2.2.3 Внести в промаркированные пробирки исследуемые и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

9.2.2.4 Поместить пробирки в термостат с температурой 70 °С на 10 мин.

9.2.2.5 Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

9.2.2.6 Поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин.

9.2.2.7 Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.

9.2.2.8 Добавить в пробирки по 700 мкл Раствора для отмывки. Плотно закрыть крышки.

9.2.2.9 Перемешать содержимое пробирок, осадить капли на вортексе, открыть крышки и поместить в магнитный штатив на 2 мин.

9.2.2.10 Удалить надосадочную жидкость аналогично п.7.2.2.7.

9.2.2.11 Повторить отмывку Раствором для отмывки (пп. 7.2.2.8-7.2.2.10).

9.2.2.12 Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в них по 800 мкл Раствора для элюции и удалить надосадочную жидкость аналогично п. 7.2.2.7.

ВНИМАНИЕ! После добавления Раствора для элюции содержимое пробирок не перемешивать.

9.2.2.13 Добавить в пробирки 70 мкл Раствора для элюции. Плотно закрыть крышки. (допускается изменение объема элюции в диапазоне 50-250мкл).

9.2.2.14 Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

9.2.2.15 Поместить пробирки в термостат с температурой 80 °С на 5 мин, перемешивая каждые 2 мин.

9.2.2.16 Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин.

9.2.2.17 Надосадочную жидкость, содержащую очищенную РНК, можно использовать для постановки реакции ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной РНК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

9.2.3 Экстракция с использованием центрифугирования

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром.

9.2.3.1 Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (ПК, ОК) образцов.

9.2.3.2 Внести в каждую промаркированную пробирку:

- по 30 мкл подготовленной смеси ВК, Стабилизатора РНК, Магнетизированной силики и по 500 мкл Лизирующего буфера,

или

- по 530 мкл подготовленной смеси ВК, Стабилизатора РНК, Магнетизированной силики и Лизирующего буфера.

9.2.3.3 Внести в пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортeксе.

9.2.3.4 Поместить пробирки в термостат с температурой 70 °C на 10 мин.

9.2.3.5 Перемешать содержимое пробирок на вортeксе.

9.2.3.6 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

9.2.3.7 По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.

9.2.3.8 Добавить в пробирки по 700 мкл Раствора для отмывки. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортeксе.

9.2.3.9 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

9.2.3.10 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 7.2.4.7.

9.2.3.11 Повторить отмывку Раствором для отмывки (пп. 7.2.4.8-7.2.4.10).

9.2.3.12 Добавить в пробирки по 800 мкл Раствора для элюции.

ВНИМАНИЕ! После добавления Раствора для элюции содержимое пробирок не перемешивать.

9.2.3.13 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

9.2.3.14 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 7.2.4.7.

9.2.3.15 Добавить в пробирки 70 мкл Раствора для элюции. Плотнo закрыть крышки. (допускается изменение объема элюции в диапазоне 50-250мкл).

9.2.3.16 Поместить пробирки в термостат с температурой 80 °C на 5 мин, перемешивая каждые 2 мин.

9.2.3.17 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

9.2.3.18 Надосадочную жидкость, содержащую очищенную РНК, можно использовать для постановки реакции ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение препарата РНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования препарат не был внесён в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

9.2.4 Хранение очищенных НК

Для хранения НК необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

Рекомендуется хранить очищенную РНК:

- при температуре от 2 до 8 °C не более 4 ч,
- при температуре от минус 24 до минус 16 °C не более недели,
- при температуре не выше минус 68 °C не более года.

9.3 Проведение реакции обратной транскрипции и ПЦР

9.3.1 Промаркируйте необходимое количество новых пластиковых пробирок объемом 0,2 мл с учетом пробирок для контрольных образцов (ОК и ПК).

9.3.2 Разморозьте содержимое пробирок «ПЦР-смесь SARS-CoV-2», «ОТ-буфер», при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С, затем встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с и осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3–5 с при комнатной температуре.

Примечание: В случае выпадения осадка в буферном растворе «ОТ-буфер» пробирку следует оставить при комнатной температуре до полного растворения осадка, периодически встряхивая на вортексе.

9.3.3 Для проведения N (количество реакций с учетом ПК и ОК) реакций смешать в отдельной пробирке ПЦР-смесь SARS-CoV-2, ОТ-буфер и Смесь ферментов из расчета на каждую реакцию:

- 10 мкл ПЦР-смесь SARS-CoV-2
- 5 мкл ОТ-буфер
- 0,5 мкл Смеси ферментов

Перемешать на встряхивателе, осадить кратковременным центрифугированием и внести по 15 мкл в микропробирки на 0,2 мл.

Внести по 10 мкл РНК исследуемых образцов, ПК и ОК.

9.4. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»

9.4.1. Запрограммировать прибор (амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени») для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (см. табл. 5).

Таблица 5 - Программа амплификации

Цикл	Температура, °С	Время	Измерение флуоресценции	Количество циклов
Hold/ Удержание	50	15 мин	-	1
Hold/ Удерж. темп-ры	95	5 мин	-	1
Cycling/ Циклирование	95	10 с	-	10
	55	60 с	-	
Cycling/ Циклирование	95	10 с	-	35
	60	60 с	Fam и Cy5	

10. УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

10.1 Учёт и интерпретация результатов реакции осуществляется с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором. Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с пороговой линией (устанавливается в середине линейного участка прироста флуоресценции положительного контроля в логарифмической шкале), что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла C_t в соответствующей графе в таблице результатов. Общая схема интерпретации результатов приведена в Приложении А.

10.2 Образец считается положительным по содержанию РНК возбудителя коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2), если детектирующий амплификатор регистрирует

экспоненциальный рост уровня флуоресценции (получено значение C_t) по каналу $Cy5$ для данного образца.

10.3 Образец считается отрицательным по содержанию РНК возбудителя коронавирусной инфекции (SARS-CoV-2), если детектирующий амплификатор регистрирует экспоненциальный рост уровня флуоресценции (получено значение C_t) по каналу FAM для данного образца, при этом C_t по каналу $Cy5$ отсутствует.

10.4 Результат оценивается как недостоверный в случае отсутствия экспоненциального роста уровня флуоресценции для специфического продукта (по каналу $Cy5$) и для внутреннего контрольного образца (по каналу FAM).

Недостоверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате РНК, полученном из биологического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др.

В этом случае требуется либо повторная постановка амплификации, либо повторное выделение препарата РНК, либо повторное взятие биологического материала (выполняется последовательно).

10.5 При отсутствии положительного результата (отсутствие значений C_t по каналам Fam и $Cy5$) в положительном контрольном образце (ПК), результаты всей постановочной серии считают не валидными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

10.6 При получении положительного результата (наличие значения C_t) по каналу $Cy5$ и/или при отсутствии значения C_t по каналу FAM в отрицательном контрольном образце (ОК), результаты всей постановочной серии считают не валидными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения контаминации.

11. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения комплектов, входящих в состав набора. Допускается кратковременная (не более 6 часов) транспортировка набор реагентов «SARS-CoV-2-ПЦР» при температуре от 2°C до 8°C.

11.2 Набор реагентов «SARS-CoV-2-ПЦР» при хранении необходимо разукomплектовать. Комплект реагентов для ОТ-ПЦР «SARS-CoV-2-ПЦР-ОТ» следует хранить при температуре от минус 18 °C до минус 22 °C в морозильных камерах в течение всего срока годности. Комплект для экстракции РНК «РНК-преп-М» хранить при температуре от 2 до 25 °C в защищённом от солнечного света месте. Не допускается замораживание реагентов.

11.3 Наборы с истекшим сроком годности использованию не подлежат.

11.4 Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

11.5 Условия применения набора реагентов:

- температура окружающей среды (15 – 35) °C;
- относительная влажность воздуха (не более 80) %;
- атмосферное давление (84,0 – 106,7) кПа / (630 – 800) мм. рт. ст.

12. УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

12.1 При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

12.2 Наборы, пришедшие в непригодность, в том числе, в связи с истечением срока годности и неиспользованные реактивы, относятся к классу Г и подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.

12.3 Упаковка набора реагентов (коробки, грипперы) после использования по назначению, относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

13. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

13.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

13.2 Срок годности набора – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации. Указанный срок хранения был определен методом «ускоренного старения» в соответствии с ГОСТ Р ИСО 23640-2015 «Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*», и подтвержден Отчетом о проведении исследований по оценке стабильности при хранении методом ускоренного старения для установления срока годности и условий хранения медицинского изделия для диагностики *in vitro* №МТ-ПЭ-С1-01.96-ПК-006 от 23.03.2020 г. Данные не подтверждены исследованиями в реальном времени. Исследование стабильности набора реагентов в реальном времени продолжается.

Сроки годности вскрытых компонентов набора реагентов – в течение срока годности набора реагентов.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит

14. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

	Только для in vitro диагностики
	Температурный диапазон
	Годен до
	Код партии
	Дата производства
	Содержит инструкцию по применению
	Каталожный номер
	Адрес производителя
	Не допускается воздействие солнечного света
  	«Восклицательный знак», «Пламя», «Жидкости, выливающейся из двух пробирок и поражающие металл и руку» Сигнальное слово: «Осторожно» Место нанесения: «Лизирующий буфер», «Раствор для отмывки» H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси. H302: Вредно при проглатывании. H314: При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги. H319: При попадании в глаза вызывает серьёзное раздражение. H332: Вредно при вдыхании. H336: Может вызывать сонливость или головокружение. H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUN032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.

15. РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

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

16. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

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

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

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов диагностики in vitro.

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 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Ч.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 документом, 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.

17. АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «МедипалТех»

Адрес для переписки: 141980 Московская обл. г Дубна, ул Программистов, 4 / стр. 1, помещение 30/3

Телефон для обращений: +7 (499) 300-14-05

Адрес электронной почты: info@medipaltech.ru

18. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. МУ 1.3. 2569-09 «Организация работ лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2009. - 42 с.
2. СП 1.3.3118-13 Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)
3. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 4 от 27.03.2020 г.
4. Временные рекомендации по организации лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV) (письмо Роспотребнадзора от 21 января 2020 года N 02/706-2020-27).
5. Инструкция об организации работы по диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-19) (письмо Роспотребнадзора от 18.03.2020 №02/4457-2020-27).
6. ПЦР в реальном времени. Ребриков Д.В., Трофимов Д.Ю., Саматов Г.А. // М.: Лаборатория знаний, 2019. - 223 с.
7. Pfefferle S., Reucher S., Nörz D., Lütgehetmann M. Evaluation of a quantitative RT-PCR assay for the detection of the emerging coronavirus SARS-CoV-2 using a high throughput system. // Euro Surveill. – 2020. – Mar;25(9). – doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.9.2000152. PubMed PMID: 32156329; PubMed Central PMCID: PMC7068162.
8. Konrad R., Eberle U., Dangel A., Treis B., Berger A., Bengs K., Fingerle V., Liebl B., Ackermann N., Sing A. Rapid establishment of laboratory diagnostics for the novel coronavirus SARS-CoV-2 in Bavaria, Germany, February 2020. // Euro Surveill. – 2020. – Mar;25(9). – doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.9.2000173. PubMed PMID: 32156330; PubMed Central PMCID: PMC7068163.
9. Chan J.F., Yip C.C., To K.K., Tang T.H., Wong S.C., Leung K.H., Fung A.Y., Ng A.C., Zou Z., Tsoi H.W., Choi G.K., Tam A.R., Cheng V.C., Chan K.H., Tsang O.T., Yuen K.Y. Improved molecular diagnosis of COVID-19 by the novel, highly sensitive and specific COVID-19-RdRp/Hel real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay validated in vitro and with clinical specimens. // J Clin Microbiol. – 2020. – Mar 4. – pii: JCM.00310-20. – doi: 10.1128/JCM.00310-20. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 32132196.

ПРИЛОЖЕНИЕ А. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ПЦР

Таблица А1 – Интерпретация результатов ПЦР

Наличие Ct в канале детекции*		Результат
Fam (BK)	Cy5 (SARS-CoV-2)	
есть Ct	есть Ct	образец содержит РНК SARS-CoV-2 (результат положительный)
нет Ct	есть Ct	образец содержит РНК SARS-CoV-2 (результат положительный)
есть Ct	нет Ct	образец не содержит РНК SARS-CoV-2 (результат отрицательный)
нет Ct	нет Ct	недостоверный (невалидный) результат, необходима повторная постановка анализа

* наблюдается экспоненциальный характер роста кривой накопления флуоресцентного сигнала.

Прошито, пронумеровано и скреплено
печатью 23 листа Генеральный директор
ООО "МедипалТех" Мануйлов В.А.
Мануйлов В.А. "9" апреля 2020г.

