



УТВЕРЖДАЮ

Представитель по доверенности
б/н от 01.07.2021

ООО «Система-Биотех»

Позднякова Н. В.

«08» сентября 2021 г.

дата подписи



ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2,
вызывающего тяжелую респираторную инфекцию,
в биологическом материале
методом петлевой изотермической амплификации
«SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL»
по ТУ 21.20.23-004-16139243-2020

1. ВВЕДЕНИЕ

Коронавирусы (*Coronaviridae*) – это большое семейство РНК-содержащих вирусов, способных инфицировать человека и некоторых животных. У людей коронавирусы могут вызывать целый ряд заболеваний – от легких форм острой респираторной инфекции до тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС). В настоящее время известно о циркуляции среди населения четырех коронавирусов (HCoV-229E, -OC43, -NL63 и -HKU1), которые круглогодично присутствуют в структуре ОРВИ, и, как правило, вызывают поражение верхних дыхательных путей легкой и средней степени тяжести. До 2002 года коронавирусы рассматривались в качестве агентов, вызывающих нетяжелые заболевания верхних дыхательных путей (с крайне редкими летальными исходами). В конце 2002 года появился коронавирус SARS-CoV, возбудитель атипичной пневмонии, который вызывал ТОРС у людей. В 2012 году мир столкнулся с не менее опасным новым коронавирусом MERS-CoV, возбудителем ближневосточного респираторного синдрома, также принадлежащему к роду Betacoronavirus.

Новый коронавирус SARS-CoV-2 представляет собой одноцепочечный РНК-содержащий вирус, относится к семейству *Coronaviridae*, относится к линии Beta-CoV В. Вирус отнесен ко II группе патогенности, как и некоторые другие представители этого семейства (вирусы SARS-CoV, MERS-CoV). С декабря 2019 г. по март 2020 г. наиболее широкое распространение SARS-CoV-2 получил на территории Китайской Народной Республики (КНР), где подтвержденные случаи заболевания были зарегистрированы во всех административных образованиях. Наибольшее количество заболевших выявлено в Юго-Восточной части КНР с эпицентром в провинции Хубэй. 11 марта 2020 года ВОЗ объявила, что вспышка приобрела характер пандемии.

Передача инфекции осуществляется воздушно-капельным, воздушно-пылевым и контактным путями. Ведущим путем передачи SARS-CoV-2 является воздушно-капельный, который реализуется при кашле, чихании и разговоре на близком (менее 2 метров) расстоянии. Контактный путь передачи осуществляется во время рукопожатий и других видах непосредственного контакта с инфицированным человеком, а также через пищевые продукты, поверхности и предметы, контаминированные вирусом. Известно, что при комнатной температуре SARS-CoV-2 способен сохранять жизнеспособность на различных объектах окружающей среды в течение 3 суток.

SARS-CoV-2 включен в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих (Постановление Правительства РФ от 31 января 2020 г. № 66).

2. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, вызывающего тяжелую респираторную инфекцию, в биологическом материале методом петлевой изотермической амплификации «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL» по ТУ 21.20.23-004-16139243-2020 (далее по тексту – Набор реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL», Набор реагентов или Набор) предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 при проведении диагностических исследований в качестве основного средства этиологической лабораторной диагностики текущей инфекции всех групп населения.

Функциональное назначение: Набор является средством этиологической диагностики COVID-19 *in vitro* и предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале человека.

Диагноз устанавливается на основании клинического обследования, данных эпидемиологического анамнеза и результатов лабораторных исследований.

Применение Набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

Целевым анализом является РНК вируса SARS-CoV-2.

Специфическая патология – коронавирусное заболевание COVID-19, вызванное вирусом SARS-CoV-2.

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

Предназначенный пользователь – только для профессионального использования. Сотрудники клинико-диагностических лабораторий медицинских учреждений.

К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики, при проведении исследований без выделения возбудителя на базе лабораторий, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных болезней человека III - IV группы патогенности, при этом к работе допускаются специалисты, давшие письменное согласие и прошедшие подготовку/инструктаж по вопросам обеспечения требований биологической безопасности, проведенный сотрудниками организаций и учреждений Роспотребнадзора, осуществляющих деятельность с возбудителями инфекционных болезней человека II группы патогенности (работа по проведению таких инструктажей организуется на территориальном уровне путем сбора обращений, формирования учебных групп при согласовании территориальных органов Роспотребнадзора).

Показания к применению:

Набор реагентов используется для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 у лиц всех возрастов с симптомами ОРВИ либо контактировавших с заболевшим COVID-19, а также у лиц всех возрастов без признаков ОРВИ (в очагах инфекции/ в условиях распространения инфекции) с целью раннего выявления коронавируса для предотвращения дальнейшего распространения инфекции.

Противопоказания:

Противопоказаний в рамках установленного производителем назначения не имеет.

Сокращенное наименование медицинского изделия для диагностики *in vitro* – «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL».

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Широко распространенным способом определения наличия или отсутствия инфекционных агентов в биологических образцах человека является специфическая амплификация генетического материала возбудителя инфекции. Петлевая изотермическая амплификация – это метод амплификации нуклеиновых кислот, представляющий собой альтернативу часто используемому методу полимеразной цепной реакции (ПЦР). Принципиальную основу метода составляет способность ДНК-полимеразы I из термофильной бактерии *Geobacillus stearothermophilus* (ДНК-полимераза *Bst*) катализировать реакцию синтеза нуклеиновых кислот с вытеснением цепи. Это исключает необходимость в периодическом повышении температуры реакции для разделения цепей нуклеиновых кислот, как в методе ПЦР.

Отличительными особенностями петлевой изотермической амплификации является проведение реакции при постоянной температуре (обычно 60 – 65 °С), быстрое накопление продуктов реакции (15 – 60 мин), возможность совмещения реакции с обратной транскрипцией, низкая чувствительность к примесям.

В процессе реакции с использованием Набора происходит амплификация специфического участка гена N вируса SARS-CoV-2. Для регистрации ДНК-продуктов амплификации используется способность флуоресцентного красителя SYBR Green связываться с двуцепочечной ДНК и продуцировать в этом состоянии более сильный сигнал флуоресценции, чем в несвязанном виде.

Для контроля анализа в Наборе реагентов предусмотрены контрольные образцы: положительный контрольный образец «К+» и отрицательный контрольный образец «К-».

4. КОМПЛЕКТНОСТЬ И ФОРМЫ ВЫПУСКА

4.1. Комплектность:

В комплект поставки Набора входят:

- Набор реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL» по ТУ 21.20.23-004-16139243-2020 – 1 шт;
- Инструкция по применению Набора – 1 шт. (вложена в потребительскую упаковку);
- Паспорт качества. Паспорт качества должен прилагаться к каждой поставке в одном экземпляре независимо от числа Наборов в поставке.

4.2. Форма выпуска:

Форма выпуска предназначена для детекции РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом петлевой изотермической амплификации в препаратах предварительно выделенной из биологических образцов РНК с оценкой результата путем регистрации флуоресценции в режиме «реального времени». Компоненты тест-системы расфасованы в пластиковые пробирки соответствующего объема. На пробирки с компонентами наклеены этикетки с указанием наименования компонента и его объема в пробирке.

5. СОСТАВ

5.1. В работе необходимо использовать компоненты строго из одной серии Набора реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL» по ТУ 21.20.23-004-16139243-2020. Запрещается использование отдельных компонентов, относящихся к разным сериям Набора реагентов.

Состав Набора реагентов представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Компоненты Набора реагентов

Наименование компонента	Количество
«К+» – положительный контроль – прозрачная бесцветная жидкость.	1 пробирка (0,05 мл)
«К-» – отрицательный контроль – прозрачная бесцветная жидкость.	1 пробирка (0,05 мл)
«РС» – реакционная смесь – прозрачная бесцветная жидкость.	1 пробирка (1,1 мл)
«Фермент» – смесь ферментов – прозрачная бесцветная или светло-желтая жидкость.	1 пробирка (0,12 мл)

Внешний вид реагентов должен соответствовать таблице 1. Для реагентов «РС» и «Фермент» допустимо наличие слабого неприятного запаха. Не использовать Набор в случае нарушения целостности пробирок или потребительской упаковки!

Инструкция по применению входит в состав Набора реагентов и поставляется с каждой единицей продукции.

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

Контрольные образцы «К+» и «К-» используются для контроля проведения реакции петлевой изотермической амплификации при исследовании на выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2 в анализируемых образцах.

«К-» (Отрицательный контроль) представляет собой воду, свободную от нуклеаз и нуклеиновых кислот.

«К+» (Положительный контроль) представляет собой раствор, содержащий продукт амплификации целевой последовательности генома коронавируса SARS-CoV-2 (синтетический фрагмент ДНК), соответствующий специфическому участку гена N вируса SARS-CoV-2, который может быть далее амплифицирован в реакции петлевой

изотермической амплификации (LAMP) с применением Набора, с концентрацией 10^5 копий на мл. Концентрация компонента измерена поверенным спектрофотометром NanoDrop OneC с неопределенностью измерения $\pm 2\%$ в единицах измерения нг/мкл и переведена в копии на мл в соответствии с длиной синтетического фрагмента. Таким образом, концентрация «К+» обладает метрологической прослеживаемостью до единиц СИ (кг, м³).

«РС» (Реакционная смесь) представляет собой смесь олигонуклеотидов, специфических к геномной последовательности коронавируса SARS-CoV-2, в необходимом для проведения реакции буферном растворе.

«Фермент» представляет собой смесь ферментов — обратной транскриптазы и ДНК-полимеразы *Bst* (оптимум рабочей температуры 65°C).

5.2. Число анализируемых проб.

Набор реагентов рассчитан на анализ 100 образцов, включая контрольные реакции.

6. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитические характеристики Набора измерены на испытаниях с использованием амплификатора CFX96 («Био-Рад Лабораториз, Инк.», США, ФСЗ 2008/03399) и Комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008, ФБУН ЦНИИЭ, Россия (РУ № ФСР 2008/03147).

6.1. Аналитическая чувствительность (предел обнаружения)

Таблица 2 – Аналитическая чувствительность Набора

Вид образца	Возбудитель	Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК	Аналитическая чувствительность ¹⁾ , ГЭ/мл
Мазки со слизистой носоглотки и/или ротоглотки	SARS-CoV-2, штамм ГК2020/1, 1301/2	РИБО-преп	1×10^3
Искусственный образец, не содержащий биологического материала	СПО+ SARS-CoV-2 (искусственный стандартный образец предприятия)	-	1×10^3

6.2. Аналитическая специфичность

Неспецифических реакций при анализе образцов микроорганизмов с концентрацией в образце не менее 10^5 КОЕ/мл (см. табл. 3), а также вирусов, указанных в таблице 3, не наблюдалось. Таким образом, аналитическая специфичность, рассчитанная как доля образцов, не содержащих нуклеиновые кислоты (НК) вируса SARS-CoV-2, правильно идентифицированных как образцы, не содержащие НК вируса SARS-CoV-2, составляет 100 %.

¹⁾ Предел обнаружения выражается в геномных эквивалентах (ГЭ) возбудителя в 1 мл пробы (используется как взаимозаменяемая единица с «копиями на мл»). Испытания предела обнаружения проходили в диапазоне концентраций от 10^3 до 10^4 ГЭ/мл, и в этом диапазоне возбудитель был выявлен во всех повторностях; предел обнаружения представлен как наименьшая концентрация целевого анализа в образце, которая может обнаруживаться изделием с 95% уровнем достоверности.

Таблица 3 – Аналитическая специфичность Набора

Возбудитель, концентрация по паспорту штамма	Разведение паспортной концентрации возбудителя на биологическом материале (носоглоточные (назальные)/ротоглоточные мазки в стерильном растворе 0,9% натрия хлорида) для исследования	Норма
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ССВН-101/14, 10 ⁸ КОЕ/мл	1:1000	Не выявлено
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC® 49619™, 10 ⁶ КОЕ/мл	1:10	Не выявлено
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC® 49247™, 10 ⁶ КОЕ/мл	1:10	Не выявлено
Вирус парагриппа 1-го типа, «Сендай» (Биомед), 2339, 5,0 lg ID ₅₀ /мл	1:10	Не выявлено
Вирус гриппа А, А/Anhui/1/2013 (H7N9), 10 ⁵ TCID ₅₀ /мл	1:10	Не выявлено
Вирус гриппа А, А/Москва/7/2020 (H1N1)pdm09, 1:64 ГАЕ	1:10	Не выявлено
Аденовирус 5 типа, 394, 10 ⁵ TCID ₅₀ /мл	1:10	Не выявлено
Вирус гриппа В, В/Москва/46/2019, 1:32 ГАЕ	1:10	Не выявлено
Метапневмовирус человека, НМ-1, 10 ⁵ TCID ₅₀ /мл	1:10	Не выявлено
Коронавирус SARS-CoV-2, ГК2020/1, 1301/2, 10 ⁸ копий/мл	До концентрации 10 ³ копий/мл в искусственном биологическом образце	Выявлено

6.3. Влияние интерферирующих веществ

Таблица 4 – Влияние потенциально интерферирующих веществ

Исследуемый материал	Потенциальный интерферент	Концентрация в образце	Ингибирующий эффект
Мазки из носоглотки	Хлоргексидина биглюконат, водный раствор	0,5 %	Отсутствует
	Раствор Люголя с глицерином	0,1 %	Отсутствует
	Цельная (капиллярная) кровь	5 %	Отсутствует
	Муцин	5 %	Отсутствует

6.4. Воспроизводимость

Коэффициент вариации для порогового цикла при реакции с разведением стандартного образца СПО+ SARS-CoV-2 $1 \cdot 10^3$ ГЭ/мл, с разведением вируса SARS-CoV-2 (штамм ГК2020/1, 1301/2) $1 \cdot 10^3$ ГЭ/мл, а также при оценке внутрисерийной прецизионности и межсерийной прецизионности на клинических образцах составил не более 20%.

7. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностические характеристики Набора измерены на испытаниях с использованием амплификатора CFX96 («Био-Рад Лабораториз, Инк.», США, ФСЗ 2008/03399) и Комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008, ФБУН ЦНИИЭ, Россия (РУ № ФСР 2008/03147).

Диагностическую чувствительность определяли при исследовании 28 образцов мазков из носоглотки и 28 образцов мазков из ротоглотки, полученных от пациентов с подтвержденным диагнозом COVID-19.

Диагностическая чувствительность Набора реагентов для ротоглоточных мазков составила 96,4 % (95% ДИ: 86,3-96,4%), для носоглоточных мазков составила 92,9 % (95% ДИ: 82,2-92,9%).

Диагностическую специфичность определяли при исследовании 25 носоглоточных и 25 ротоглоточных мазков, не содержащих РНК коронавируса SARS-CoV-2. Каждая группа образцов содержала образцы от 2 пациентов с подтвержденным наличием вируса гриппа А, от 2 пациентов, у которых подтверждено наличие вируса гриппа В, от 2 пациентов с сезонным коронавирусом (не SARS-CoV-2), от 2 пациентов с аденовирусом и 2 пациентов с риновирусом, а также 15 мазков от людей без признаков ОРВИ, 9 из которых были нагружены возбудителями респираторных инфекций из состава панели инактивированных возбудителей респираторных инфекций (состав панели см. в таблице 3).

Диагностическая специфичность Набора реагентов составила 100% (95% ДИ: 88,1-100%) для носоглоточных мазков, 100% (95% ДИ: 88,6-100%) для ротоглоточных мазков.

8. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

8.1. Использовать только для диагностики *in vitro*.

8.2. Потенциальный риск применения Набора реагентов – класс 3.

8.3. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением требований, изложенных в методических указаниях МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

8.4. Исследования по выявлению в клиническом материале возбудителей инфекционных болезней, относящихся ко II группе патогенности, должно проводиться с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и 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». В соответствии с п.3 МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» диагностика COVID-19 без выделения возбудителя может проводиться в лабораториях, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами III-IV группы патогенности.

8.5. Необходимо одновременно обеспечить как соблюдение персоналом правил биологической безопасности, так и требований к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб, помещений и оборудования.

8.6. При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне экстракции, продолжать в Зоне амплификации и детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21. Класс отходов определяется согласно СанПиН 2.1.3684-21.

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

8.8. Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с требованиями санитарного законодательства и группой патогенности возбудителя (II группа патогенности).

8.9. Неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21. Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку необходимо утилизировать как отходы класса «А».

8.10. При каждой операции необходимо использовать и менять одноразовые наконечники с фильтром для автоматических дозаторов. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

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

8.12. Набор реагентов предназначен для одноразового применения для проведения исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).

8.13. Набор готов к применению согласно данной инструкции. Применять Набор строго по назначению.

8.14. Допускать к работе с набором реагентов только специально обученный персонал. К работе с набором реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики, при проведении первичных скрининговых исследований без выделения возбудителя на базе лабораторий, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных болезней человека III - IV группы патогенности, при этом к работе допускаются специалисты, давшие письменное согласие и прошедшие подготовку/инструктаж по вопросам обеспечения требований биологической безопасности, проведенный сотрудниками организаций и учреждений Роспотребнадзора, осуществляющих деятельность с возбудителями инфекционных болезней человека II группы патогенности (работа по проведению таких

инструктажей организуется на территориальном уровне путем сбора обращений, формирования учебных групп при согласовании территориальных органов Роспотребнадзора).

8.15. Не использовать Набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

8.16. Не использовать Набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

8.17. Не использовать Набор по истечении срока годности.

8.18. Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

8.19. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

8.20. Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека: при использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности Набор безопасен.

8.21. Набор не содержит: лекарственные средства для медицинского применения, материалы человеческого и животного происхождения, материалы, которые являются канцерогенными, мутагенными или токсичными, возможное выделение или вымывание которых приводит к сенсибилизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.

8.22. Воздействие на функционирование внешних факторов в диапазоне их возможного изменения при применении Набора в медицинских учреждениях - не существенно, включая электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температуру воздуха (если предпринимаются указанные в настоящей инструкции меры по охлаждению реагентов и пробирок для анализа).

8.23. Применение Набора не требует специальных мер безопасности при воздействии таких предсказуемых факторов, как внешние электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температура воздуха.

8.24. Применение Набора не требует специальных мер безопасности относительно риска электромагнитных помех, поскольку в состав материала не входят и в результате применения не появляются какие-либо источники излучения.

9. УКАЗАНИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ

9.1. Набор реагентов должен применяться согласно инструкции по применению, утвержденной в установленном порядке.

9.2. Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться специалистами с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, давшими письменное согласие и прошедшими инструктаж, проведенный сотрудниками лабораторий Роспотребнадзора, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных заболеваний человека II группы патогенности, прошедшими подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности и получившими дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики (методам ПЦР в реальном времени).

9.3. Набор должен использоваться при температуре воздуха от 15 до 28 °С и относительной влажности воздуха не более 75 %.

9.4. Набор не имеет принадлежностей, медицинских изделий или изделий, не являющихся медицинскими, но предусмотренных для использования в комбинации с Набором.

9.5. Набор не имеет предыдущих модификаций, находящихся в обращении.

9.6. Набор не подлежит калибровке, техническому обслуживанию и ремонту.

10. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Бокс с бактерицидной лампой (например, БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный), установленный в рабочей зоне 3 (МУ 1.3.2569-09).

Набор электронных или механических дозаторов (пипеток) переменного объема (например, «Ленпипет», Россия, или аналогичный).

Амплификатор с флуоресцентной детекцией CFX96 («Био-Рад Лабораториз, Инк.», США, ФСЗ 2008/03399).

Штатив изотермический (например, Isofreeze®, США, или аналогичный) или лед и емкость для льда.

Тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с оптически прозрачными крышками (при считывании сигнала сверху), или с оптически прозрачным дном – при детекции сигнала снизу (например, «Ахуген», США или аналогичные, для удобства рекомендуется использование стрипов по 8 или 12 пробирок или пробирок тонкостенных в планшетах для ПЦР, 96-луночных), совместимые с используемым прибором.

Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром от 1 до 1000 мкл (например, «Ахуген», США или аналогичные).

***ВНИМАНИЕ!** При работе с Набором реагентов и анализируемыми образцами необходимо использовать одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free. Для манипуляций с Набором реагентов и анализируемыми образцами необходимо использовать одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером.*

Микроцентрифуга-вортекс (например, «Циклотемп-901» или аналогичная).

Микроцентрифуга для стрипов (например, «Циклотемп-903» или аналогичная). (В случае использования стрипованных микропробирок).

Холодильник от 2 до 8 °C с морозильной камерой от минус 25 до минус 15°C.

Костюм для лабораторного персонала и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09. Выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с санитарным законодательством и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Емкость для сброса наконечников.

Дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов, потенциально содержащих вирус SARS-CoV-2.

11. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

11.1. Тип биологического материала.

Биологическим материалом для исследования являются мазки со слизистой оболочки рото- и/или носоглотки человека (предпочтительно из ротоглотки). Образцы хранят в холодильнике при температуре +2...+8 °C в течение не более суток и транспортируют при температуре хранения с соблюдением «холодовой цепи». При необходимости более длительного хранения (до 1 месяца) образец требуется хранить при температуре -20 °C и транспортировать при температуре хранения с соблюдением «холодовой цепи», не допуская повторных циклов заморозки и разморозки.

11.2. Процедура получения, обработки биологического материала и выделения РНК.

Получение и обработка биологического материала, зараженного или подозрительного на зараженность коронавирусом SARS-CoV-2, не являются частью процедуры анализа с использованием Набора реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL». Пробоподготовка, обработка биологического материала и экстракция РНК проводятся в соответствии с инструкцией по применению комплектов/наборов для выделения РНК, зарегистрированных в установленном порядке на территории Российской Федерации: «Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008, ФБУН ЦНИИЭ, Россия (ПУ № ФСР 2008/03147 от 22.02.2019 г.). Полученный препарат РНК используется для проведения анализа с помощью Набора реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL».

В каждую партию образцов для выделения с помощью комплекта/набора для выделения РНК наряду с исследуемым материалом рекомендуется включать отрицательный контроль выделения РНК (ОКО-В). Для постановки ОКО-В в процедуре выделения РНК вместо одного из образцов биологического материала можно добавлять воду, входящую в состав Набора («К-»), или воду другого производства качества не ниже «для молекулярной биологии», свободную от нуклеиновых кислот, РНКаз и ДНКаз. При выделении РНК с помощью комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «Рибо-преп» возможно получать ОКО-В, не добавляя в пробу отрицательного контроля какой-либо препарат. ОКО-В анализируется в реакции амплификации вместе с полученными препаратами РНК и позволяет контролировать возможную контаминацию на этапе выделения РНК. Постановка реакции амплификации для ОКО-В происходит как для отрицательного контроля (см. табл. 5).

11.3. Материалом для исследования с помощью Набора реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL» является РНК, экстрагированная из проб биологического материала, зараженного или подозрительного на зараженность коронавирусом SARS-CoV-2. Выделенную РНК требуется хранить при температуре -20 °С в течение не более 1 месяца и транспортировать при температуре хранения с соблюдением «холодовой цепи», не допуская повторных циклов заморозки и разморозки. При температуре хранения -80 °С допустимо хранение выделенной РНК в течение 3 лет.

12. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Анализ проводят в рабочей зоне 3, не подразумевающей контакта с биоматериалом (МУ 1.3.2569-09).

Необходимо в каждом запуске теста анализировать положительный и отрицательные контрольные образцы «К+» и «К-».

Для проведения анализа используют амплификатор CFX96 («Био-Рад Лабораториз, Инк.», США, ФСЗ 2008/03399) и микропробирки для ПЦР, совместимые с используемым прибором.

Для проведения анализа с помощью Набора реагентов с использованием амплификатора необходимо подготовить амплификатор **заранее** в соответствии с руководством по эксплуатации. При этом необходимо запрограммировать амплификатор согласно следующим принципам:

- температура инкубации постоянная и составляет 65 °С;
- 40 циклов по 20 секунд с измерением флуоресценции на канале SYBR (FAM) каждые 20 секунд.

Внимание! Если в амплификаторе предусмотрен дополнительный прогрев крышки, то ее необходимо прогреть заранее.

ВНИМАНИЕ! При работе с Набором реагентов и анализируемыми образцами необходимо использовать одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку *RNase-free*, *DNase-free*. Для манипуляций с Набором

реагентов и анализируемыми образцами необходимо использовать одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером.

ВНИМАНИЕ!!! Во время работы с реагентами необходимо обеспечить их охлаждение путем помещения их в охлажденный штатив (например, штатив изотермический Isofreeze®), на хладоэлемент (аккумулятор холода) или в лед. Для охлаждения компонента «Фермент» настоятельно рекомендуется использовать изотермический штатив или хладоэлемент, охлажденный при -20 °С (пробирку помещают в штатив или на блок хладоэлемента). **Не допускайте нахождения «РС» и «Фермента» при комнатной температуре!**

Компоненты Набора реагентов разморозить и тщательно перемешать (пипетированием или с помощью 1-2 ударов по стенке пробирки). Если на стенках пробирок после этого остались капли, стряхнуть их на дно с помощью микроцентрифуги, предпочтительно с охлаждением. **Поместите реагенты на холод сразу после разморозки!**

Подготовить микропробирки в количестве $n+2$, где n – число образцов, которые нужно исследовать (2 пробирки используют в качестве контрольных).

ВНИМАНИЕ!!! Необходимо поместить микропробирки в изотермический штатив, охлажденный при +4 °С (предпочтительно) или, при отсутствии такового, на лед. Если в процессе работы нарушается режим охлаждения, с высокой вероятностью образуются неспецифические продукты амплификации.

При необходимости промаркировать микропробирки согласно идентификационному номеру исследуемого образца. **ВНИМАНИЕ!** В зависимости от используемого оборудования для проведения анализа надписи следует располагать таким образом, чтобы они не мешали детектированию флуоресцентного сигнала. См. руководство по эксплуатации прибора.

Смешать компоненты «РС» и «Фермент» в отдельной охлажденной пробирке согласно таблице 4, тщательно перемешать (пипетированием или с помощью 1-2 ударов по стенке пробирки). Если на стенках пробирок после этого остались капли, стряхнуть их на дно с помощью микроцентрифуги, предпочтительно с охлаждением. **Немедленно использовать смесь! Хранить смесь на холоде не более 10 минут!**

ВНИМАНИЕ! Здесь и далее следует использовать дозаторы (пипетки), диапазон объемов которых, заявленный производителем, соответствует объемам, указанным в настоящей инструкции. Необходимо менять наконечник пипетки между разными реагентами и разными образцами!

Таблица 4 – подготовка смеси компонентов «РС» и «Фермент» согласно количеству анализируемых проб*

Компонент	Объем на 1 пробу, мкл	Объем на 10 проб, мкл	Объем на 24 пробы, мкл	Объем на 48 проб, мкл	Объем на 96 проб, мкл
«РС»	9	100	240	450	900
«Фермент»	1	11	27	50	100

*Для исследования любого другого числа проб (20, 30, 40...) количество «РС» и «Фермента» для 10 проб нужно умножить на соответствующий коэффициент (2, 3, 4...).

Внести по 10 мкл полученной смеси компонентов «РС» и «Фермент» в каждую микропробирку для ПЦР. Добавить в эти микропробирки компоненты согласно таблице 5, используя в качестве образца препарат РНК, полученный, как описано в разделе 11, в соответствии с инструкцией по применению Комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК

из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008, ФБУН ЦНИИЭ, Россия (ПУ № ФСР 2008/03147).

Перемешать смесь в каждой пробирке ударом пальца по пробирке. Если на стенках пробирок после этого остались капли, стряхнуть их на дно с помощью микроцентрифуги, предпочтительно с охлаждением.

Таблица 5 – Схема постановки реакции в тестовых и контрольных микропробирках.

Компонент	Образец	Отрицательный контроль	Положительный контроль
Смесь «РС» + «Фермент»	10 мкл	10 мкл	10 мкл
Образец	10 мкл	-	-
«К-»	-	10 мкл	-
«К+»	-	-	10 мкл
Суммарный объем	20 мкл	20 мкл	20 мкл

Незамедлительно поместить микропробирки в амплификатор. Обозначить в программе положение пробирок с контрольными образцами и анализируемыми образцами согласно инструкции к прибору и запустить программу амплификации.

13. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

13.1. Учет результатов анализа.

Для отрицательного контроля «К-»: значение порогового цикла C_t в канале **SYBR (FAM)** не должно определяться (N/A) или должно составлять 40 или более циклов. Если для «К-» значение C_t менее 40 циклов, это свидетельствует о наличии контаминации в системе. В этом случае результаты по данной постановке считаются недостоверными. Требуется предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить анализ всех образцов данной постановки, для которых получен положительный результат. Образцы данной постановки, анализ которых дал отрицательный результат, следует учитывать, как отрицательные.

Для положительного контроля «К+»: значение C_t в канале **SYBR (FAM)** должно быть менее 40 циклов.

НЕ учитываются, т. к. являются неспецифическими, пологие кривые, по форме НЕ напоминающие типичную кривую, получаемую в ПЦР (т. е. кривую с экспоненциальным накоплением продукта амплификации, как на рис. 2). На рис. 1 они находятся под пороговой линией, но даже если они пересекают пороговую линию, то также не учитываются. Такие пологие кривые нужно вручную исключить из анализа в программе амплификатора (опция Exclude from Analysis), или же необходимо установить пороговую линию выше пиковых значений пологих кривых. Учитываются только характерные кинетические кривые роста сигнала флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы, как на рис. 2.

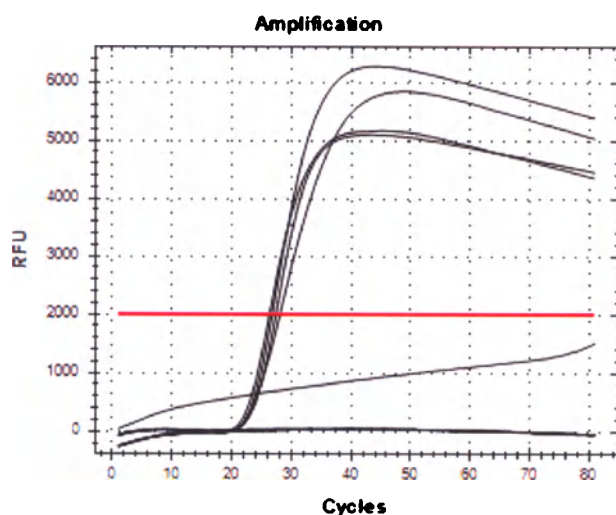


Рис. 1. Кривые, обычно наблюдаемые при анализе.

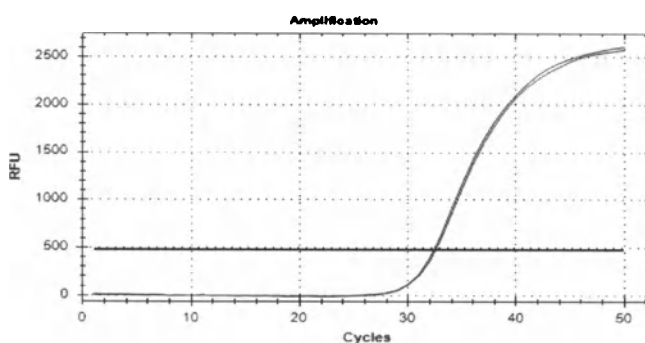


Рис. 2. Пример кривых, которые следует учитывать.

13.2. Интерпретация результатов анализа.

Если для образца значение C_t в канале SYBR (FAM) не определяется (N/A) или составляет 40 или более циклов, анализируемый образец считать **отрицательным**, то есть не содержащим РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Если для образца значение C_t в канале SYBR (FAM) составляет менее 40 циклов, анализируемый образец считать **положительным**, то есть содержащим РНК коронавируса SARS-CoV-2.

14. КОНТАМИНАЦИЯ

РНК коронавируса SARS-CoV-2 не должна выявляться в отрицательном контроле «К-». Обнаружение последовательности нуклеотидов, характерной для коронавируса SARS-CoV-2, в отрицательном контроле указывает на контаминацию другими образцами или ранее амплифицированным продуктом, произошедшую во время подготовки к проведению исследования.

Для того чтобы избежать контаминации, необходимо произвести полную обработку лаборатории в соответствии с МУ-1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности», затем повторно провести анализ.

15. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества Набора при изготовлении осуществляет отдел контроля качества предприятия-изготовителя согласно ТУ 21.20.23-004-16139243-2020.

Функциональные характеристики Набора проходят проверку с помощью стандартного образца предприятия СПО+ №002, представляющего собой искусственно синтезированный РНК-фрагмент, включающий уникальную последовательность нуклеотидов, по данным GenBank типичную для вируса SARS-CoV-2 и обнаруживаемую с помощью специфичных праймеров, входящих в состав данного Набора. Также функциональные характеристики Набора проверены с использованием штамма SARS-CoV-2 «ГК-2020/1». Аналитическая специфичность Набора проверена при анализе образцов нуклеиновых кислот следующих микроорганизмов:

Streptococcus pneumoniae ССВН-101/14

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619™

Haemophilus influenzae ATCC® 49247™

Парагриппа 1-го типа, «Сендай» (Биомед), 2339

Вирус гриппа А, А/Anhui/1/2013 (H7N9)

Вирус гриппа А, А/Москва/7/2020 (H1N1)pdm09

Аденовирус 5 типа, 394

Вирус гриппа В, В/Москва/46/2019

Метапневмовирус человека, НМ-1.

Отдел контроля качества предприятия-изготовителя проводит контроль внешнего вида реагентов с целью исключения нарушения целостности упаковки, загрязнения или протечки реагентов. Потребителю не следует использовать Набор в случае несоответствия внешнего вида реагентов таблице 1 или нарушения целостности пробирок или потребительской упаковки!

16. ОЦЕНКА ВЕРОЯТНЫХ СОБЫТИЙ

16.1. Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности Набор безопасен. При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен.

Специфические воздействия Набора реагентов на организм человека: канцерогенный эффект отсутствует, мутагенное действие отсутствует, репродуктивная токсичность отсутствует.

16.2. Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для окружающей среды.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности Набор реагентов безопасен, не является источником загрязнения окружающей среды. Материалы, из которых изготовлены Наборы, не обладают способностью образовывать токсичные соединения в воздушной среде и сточных водах в присутствии других веществ при температуре окружающей среды.

Потенциальная возможность возгорания или взрыва при использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности отсутствует.

17. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

17.1. Только для диагностики *in vitro*.

17.2. В работе необходимо использовать компоненты строго из одной серии Набора реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL» по ТУ 21.20.23-004-16139243-2020. Запрещается использование отдельных компонентов, относящихся к разным сериям Наборов реагентов «SBT-DX-SARS-CoV-2 RNA REAL».

17.3. Набор реагентов не выявляет наличие РНК коронавируса SARS-CoV-2, если его концентрация в анализируемом образце ниже заявленного (см. раздел 6.1) предела обнаружения.

17.4. Для определения наличия или отсутствия РНК коронавируса SARS-CoV-2, рекомендуется использовать назофарингеальные и/или орофарингеальные мазки, так как РНК коронавируса SARS-CoV-2 может не выявляться в других клинических образцах.

18. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

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

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

19. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Информация об особенностях транспортирования должна учитываться всеми лицами, участвующими в хранении, перевозке и утилизации (уничтожении) данного Набора.

19.1. Условия транспортирования

Транспортирование Набора реагентов должно производиться крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от минус 25°C до минус 15°C.

Транспортирование изделий при температурах, требующих соблюдения «Холодовой цепи», обеспечивающей сохранность температурного режима, должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы, или в термоконтейнерах многократного применения с автоматически поддерживаемой температурой или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов.

Наборы, транспортировавшиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

19.2. Условия хранения

Набор реагентов хранить в сухом, защищенном от света месте при температуре от минус 25°C до минус 15°C в течение всего срока годности.

Хранение Наборов при указанной температуре должно осуществляться в морозильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

Условия хранения вскрытых реагентов соответствуют условиям хранения невскрытых реагентов. Не подвергать реагенты более чем 9 циклам размораживания и замораживания. В случае, если Набор предполагается использовать для большого числа постановок анализа с небольшим числом образцов в каждой, рекомендуется расфасовать реагент «РС», для которого количество циклов размораживания и замораживания является критичным, так, чтобы объем каждой порции соответствовал объему, который планируется использовать в ходе одной постановки анализа (включая анализ контрольных образцов).

20. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности Набора реагентов составляет 12 месяцев с даты выпуска предприятием-изготовителем.

Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

21. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ И СВЕДЕНИЯ О РЕКЛАМАЦИЯХ

ООО «Система-БиоТех» гарантирует стабильность Наборов реагентов, соответствие основных параметров и характеристик Наборов требованиям, указанным в технической и

эксплуатационной документации на протяжении всего срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов, а также в случае изменения аналитических характеристик следует обращаться к производителю: ООО «Система-БиоТех», 109235, Москва, ул. 1-я Курьяновская, д. 34, строение 11, эт/пом/ком 5/1/13, тел./факс: +7 (495) 9256454, info@sistemabiotech.ru.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению Набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации Набора реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулируемую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

22. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ

	Код партии		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Содержимого достаточно для проведения количества тестов
	Изготовитель		Использовать до
	Дата изготовления		Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон		Не допускать воздействия солнечного света

23. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

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 ИСО 15223-1-2020 Медицинские изделия. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*.

24. 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. 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».
3. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
4. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», Версия 11 от 07.05.2021 г.
5. Временные рекомендации по организации лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV) (письмо Роспотребнадзора от 21 января 2020 года N 02/706-2020-27).
6. Инструкция об организации работы по диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-19) (письмо Роспотребнадзора от 18.03.2020 №02/4457-2020-27).

по доверенности №/н

от 01.07.2021

Позднякова Н.В. *мл 18 лет*

Подпись

