

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор
ООО «НПО ДНК-Технология» В.Ю. Дмитриовский«18» января 2024 г.

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «ДНК-Технология ТС» С.А. Самарин«18» января 2024 г.**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ****Набор реагентов для выявления РНК****коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV),
вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus)****методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени
(SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В)**

2024 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

COVID-19	- от англ. COrona VIRus Disease 2019, коронавирусное заболевание 2019
RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
RSV	- от англ. Respiratory syncytial virus (RSV), респираторно-синцитиальный вирус
SARS-CoV-2	- от англ. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (коронавирус, вызывающий острый респираторный синдром 2), эквивалентные названия COVID-19 virus, 2019-nCoV, Wuhan seafood market pneumonia virus
БК	- внутренний контроль
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
ИБ	- интерферирующие вещества
К-	- отрицательный контрольный образец
кДНК	- комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
НК	- нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК)
ОРВИ	- острые респираторные вирусные инфекции
ОРЗ	- острое респираторное заболевание
ОТ	- обратная транскрипция
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РНКаза	- рибонуклеазы

1. ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

- 1.1. Полное наименование набора реагентов:** Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В), далее по тексту – набор реагентов.
- 1.2. Назначение:** набор реагентов предназначен для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) в биологическом материале человека (мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.
- 1.3. Функциональное назначение:** диагностика *in vitro*.
- 1.4. Показания к проведению исследования:**
- наличие симптомов и контакт с больными ОРВИ;
 - пребывание в очагах инфекции (с целью раннего выявления возможного инфицирования и предотвращения дальнейшего распространения);
 - дифференциальная диагностика ОРВИ.
- Противопоказаний к применению нет.
- 1.5. Популяционные и демографические аспекты:** применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.
- 1.6. Область применения:** набор реагентов может быть использован в клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений.
- 1.7. Потенциальные пользователи:** квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории: врач клинко-диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (медицинский лабораторный техник).
- 1.8. Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.**

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1. Состав набора реагентов

REF R3-P457-S3/9, фасовка S, стрипы			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,62 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов	12 шт.		

REF R3-P457-23/9, фасовка S, пробирки			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	96 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,62 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл

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

Комплектность:

- Набор реагентов в одном из вариантов исполнения – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 экз.
- Вкладыш – 1 экз.
- Паспорт – 1 экз.

¹ - на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+», «Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"» указывается как «РНК-ВК "А"»

2.2. Количество анализируемых образцов

Набор реагентов рассчитан на проведение 96 определений (не более 12 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

2.3. Принцип метода

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

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

Этапы обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации кДНК проводят в одной пробирке, что повышает чувствительность метода, уменьшает вероятность контаминации и снижает время проведения исследования.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта. Горячий старт обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоев, разделенных прослойкой из парафина или использования Таq-полимеразы, блокированной антителами. Старт полимеразной цепной реакции происходит только при расплавлении парафина или температурной диссоциации комплекса Таq-полимеразы и антител, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

В состав набора реагентов включен внутренний контрольный образец РНК-ВК "А", который добавляется в анализируемые образцы на стадии выделения РНК и предназначен для оценки этапа выделения РНК и качества прохождения обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР).

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

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации искомой кДНК респираторно-синцитиального вируса (RSV), включена флуоресцентная метка Fam.

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

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации искомой кДНК вируса гриппа В (Influenza B virus), включена флуоресцентная метка Cy5.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации искомой кДНК вируса гриппа А (Influenza A virus), включена флуоресцентная метка Cy5.5.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта внутреннего контрольного образца, входит флуоресцентный краситель Hex.

В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации.

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
RSV	БК*	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	Influenza B virus	Influenza A virus

* - внутренний контрольный образец РНК-БК "А"

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

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая специфичность

Поскольку нельзя исключить возникновения новых мутаций в геноме коронавируса SARS-CoV-2, для повышения надежности диагностики в качестве мишеней выбраны два участка генома: участки гена N и гена E.

В образцах биологического материала, содержащих РНК выявляемых вирусов, во время проведения амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать экспоненциальный рост уровня флуоресценции по заявленным каналам детекции.

В образцах биологического материала, не содержащих РНК выявляемых вирусов, при проведении амплификации программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать отсутствие экспоненциального роста уровня флуоресценции по заявленным каналам детекции и положительный результат амплификации внутреннего контроля по каналу детекции Нех.

Показано отсутствие перекрестных неспецифических реакций каждой из систем олигонуклеотидов, входящих в состав набора реагентов по отношению к вирусам, определяемым другими системами.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце РНК Human Coronavirus HKU-1, Human Coronavirus NL-63, Human Coronavirus 229E, Human Coronavirus OC-43, Human Rhinovirus, Human Parainfluenza virus type 1, Human Parainfluenza virus type 2, Human Parainfluenza virus type 3, Human Parainfluenza virus type 4, Human Metapneumovirus, MERS-CoV, ДНК Human Adenovirus, *Mycoplasma pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, MRSA, *Legionella pneumophila*, а также ДНК человека в концентрации до $1,0 \times 10^8$ копий/мл образца.

В ходе проведения валидационных испытаний показано наличие специфических результатов амплификации при наличии в образце РНК, выделенной из образцов SARS-CoV-2 и Respiratory syncytial virus, полученных в рамках международной системы QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics), Великобритании, а также РНК, выделенной из 15 штаммов гриппа А субтипов A(H1N1)pdm09 и A(H3N2) и 11 штаммов гриппа В различных эпидемических сезонов.

3.2. Интерферирующие вещества

Наличие в образцах биологического материала интерферирующих веществ, которые могут ингибировать ПЦР, может являться причиной сомнительных (недостоверных) результатов. Признаком полного ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфических продуктов.

К интерферирующим веществам, ингибирующим ПЦР, отнесены:

- эндогенные вещества (цельная кровь; лейкоциты; слизь);
- экзогенные (вещества, добавляемые в образцы биоматериала во время пробоподготовки (изопропиловый спирт и метилацетат); местные лекарственные препараты).

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на проведение амплификации составляют: гемоглобин – 0,35 мг/мл образца РНК, изопропиловый спирт – 100 мкл/мл образца РНК, метилацетат – 100 мкл/мл образца РНК.

Интерферирующее влияние таких веществ, как лейкоциты, слизь, местные лекарственные препараты, которые могут содержаться в образцах биоматериала в клинически значимых концентрациях, не наблюдалось.

Для снижения количества интерферирующих веществ, ингибирующих ПЦР, необходимо соблюдать правила взятия биологического материала. При подозрении на наличие в образце большого количества ингибиторов ПЦР рекомендуется выбирать методы выделения нуклеиновых кислот, позволяющие произвести их максимальное удаление из образца, не рекомендуется использовать экспресс-методы выделения нуклеиновых кислот.

3.3. Предел обнаружения

Предел обнаружения: 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку.

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

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

Предел обнаружения 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку соответствует следующим значениям концентрации РНК в образце при использовании комплектов/наборов реагентов для выделения нуклеиновых кислот:

Биоматериал	ПРОБА-НК (объём полученного препарата 50 мкл)	ПРОБА-НК-S (объём полученного препарата 50 мкл)	ПРОБА-МЧ- НК-S (объём полученного препарата 100 мкл)	ПРОБА-МЧ DWP (объём полученного препарата 100 мкл)	ПРОБА-МЧ- РАПИД II (объём полученного препарата 100 мкл)
Мазок из носоглотки, ротоглотки в 500 мкл транспортной среды ¹	1000 копий/мл образца	1000 копий/мл образца	2000 копий/мл образца	2000 копий/мл образца	2000 копий/мл образца
Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспира́т	1000 копий/мл образца	Не применяется	Не применяется	Не применяется	Не применяется
Мокрота (предобработка с муколизини́мом)	5000 копий/мл образца	Не применяется	Не применяется	Не применяется	Не применяется

3.4. Диагностические характеристики

Вид биоматериала	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
Респираторно-синцитиальный вирус (RSV)		
Мазок из носоглотки	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Мазок из ротоглотки	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Бронхоальвеолярный лаваж	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Эндотрахеальный аспира́т	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Назофарингеальный аспира́т	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Мокрота	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Итого	100 % (95 % ДИ: 98,77 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 98,77 % – 100 %)
Вирус гриппа А (Influenza A virus)		
Мазок из носоглотки	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Мазок из ротоглотки	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Бронхоальвеолярный лаваж	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Эндотрахеальный аспира́т	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Назофарингеальный аспира́т	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)

¹ - в качестве транспортной среды использовалась Транспортная среда для биопроб СТОР-Ф, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640

Вид биоматериала	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
Мокрота	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Итого	100 % (95 % ДИ: 98,77 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 98,77 % – 100 %)
Вирус гриппа В (Influenza B virus)		
Мазок из носоглотки	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Мазок из ротоглотки	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Бронхоальвеолярный лаваж	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Эндотрахеальный аспират	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Назофарингеальный аспират	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Мокрота	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Итого	100 % (95 % ДИ: 98,77 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 98,77 % – 100 %)
Коронавирус SARS-cov-2		
Мазок из носоглотки	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Мазок из ротоглотки	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Бронхоальвеолярный лаваж	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Эндотрахеальный аспират	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Назофарингеальный аспират	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Мокрота	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 92,88 % – 100 %)
Итого	100 % (95 % ДИ: 98,77 % – 100 %)	100 % (95 % ДИ: 98,77 % – 100 %)

3.5. Воспроизводимость и повторяемость

Воспроизводимость составляет 100%.

Повторяемость составляет 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению РНК SARS-CoV-2 обязаны обеспечивать безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия. Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15190-2023, 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», методических рекомендаций МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

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

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

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

Сбор клинического материала и его упаковку осуществляет работник медицинской организации, обученный требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность микроорганизмами II группы патогенности. Каждый образец материала помещают в отдельную транспортную емкость, обеспечивая требования в соответствии с таблицей настоящих методических рекомендаций.

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

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

Все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфицированными, и при работе с ними должны учитываться требования санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21. Медицинские работники, которые собирают или

транспортируют клинические образцы в лабораторию, должны быть обучены практике безопасного обращения с биоматериалом, строго соблюдать меры предосторожности и использовать средства индивидуальной защиты (СИЗ).

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

При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

Следует использовать только новые наконечники и пробирки.

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

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

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

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

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

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится выделение НК и постановка ОТ-ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

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

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

При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями санитарных правил и норм 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».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасного компонента	Указание на риски
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
ОТ-ПЦР-буфер	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Фермент Taq/RT	Нет опасных веществ	-
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Положительный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

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

Не использовать набор реагентов:

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

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

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S, пробирки	Фасовка S, стрипы
ПЦР-бокс	да	да
амплификатор с детекцией в режиме реального времени ¹	да	да
микроцентрифуга-вортекс	да	да
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл	нет	да
холодильник с морозильной камерой	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл	да	нет
штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл	нет	да
штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл	да	да
дозаторы механические или электронные переменного объёма одноканальные, позволяющие отбирать объём жидкости от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200–1000 мкл	да	да
одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл	да	да
штатив для дозаторов	да	да
пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками	да	да
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да
физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный (если необходимо)		
транспортная среда (при необходимости), рекомендуется использовать Транспортную среду для биопроб СТОР-Ф, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640 или Транспортную среду для биопроб с муколитиком (СТОР-М), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2019/9453		
набор/комплект реагентов для выделения НК из биологического материала, рекомендуются ² :		
- Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС по ТУ 9398-035-46482062-2009 в форме комплектации: комплект ПРОБА-НК, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2010/08867;		
- Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК-S) по ТУ 21.20.23-117-46482062-2020, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/11296;		
- Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ-НК-S) по ТУ 21.20.23-118-46482062-2020, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15267;		
- Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ DWP) по ТУ 21.20.23-062-46482062-2020, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15090;		
- Набор реагентов для выделения ДНК/РНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека (ПРОБА-МЧ-РАПИД II), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2024/23205.		
Дополнительно для выделения НК:		
бокс биологической безопасности II класса	да	
термостат твердотельный, поддерживающий температуру 65 °С	да	

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S, пробирки	Фасовка S, стрипы
электрический лабораторный аспиратор с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей (при необходимости удаления надосадочной жидкости)	да	
одноразовые наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз, для электрического лабораторного аспиратора	да	
центрифуга для пробирок объёмом 1,5 мл, с RCF(g) не ниже 12000	да	
дезинфицирующий раствор	да	
Примечания к таблице: ¹ - далее по тексту – детектирующий амплификатор; требуемые параметры детектирующих амплификаторов указаны ниже ² - возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения РНК определяется видом биологического материала (7.1)		

Набор реагентов применяется с детектирующими амплификаторами планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированными в установленном порядке в РФ и соответствующими следующим требованиям:

- обеспечивается работа с объёмом реакционной смеси 40 мкл;
- обеспечивается работа с флуорофорами: Fam, Hex, Rox, Cy5, Cy5.5;
- подогреваемая крышка с температурой более 100 °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/с;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/с;
- точность поддержания и однородность температуры не более $\pm 0,4$ °С.

Для работы с набором реагентов валидированы следующие детектирующие амплификаторы:

- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм 5М*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229, далее по тексту – «ДТпрайм»;
- Амплификатор детектирующий «ДТлайт» по ТУ 9443-003-96301278-2010 (модификация «ДТлайт 5S*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10228, далее по тексту – «ДТлайт».

По вопросам применения детектирующих амплификаторов, не указанных выше, требуется согласование с производителем набора реагентов.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Материал для исследования

Для исследования используют мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокроту.

6.2. Особенности взятия биоматериала, в соответствии с МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» от 30.03.2020.

ВНИМАНИЕ! Перед выделением РНК может потребоваться предварительная обработка образцов биологического материала (6.4).

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

6.3. Транспортирование и хранение исследуемого материала, в соответствии с МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» от 30.03.2020.

Таблица 2 – Условия транспортирования и хранения биоматериала

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

* - при невозможности обеспечить хранение при минус 70 °С образцы следует хранить при минус 20 °С

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

*** - используются зонды-тампоны, предназначенные для взятия мазков из носоглотки и ротоглотки, например, Зонд медицинский одноразовый стерильный РУ № РЗН 2021/13989

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

ВНИМАНИЕ! Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

6.4. Подготовка биологического материала для выделения РНК

Подготовка биологического материала (при необходимости) проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых наборов/комплектов реагентов для выделения НК (7.1).

При использовании для выделения РНК из мокроты комплекта реагентов ПРОБА-НК предобработку мокроты следует проводить с использованием муколизина (см. инструкцию по применению комплекта реагентов ПРОБА-НК, способ 2).

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

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ВНИМАНИЕ! Диапазон вирусной нагрузки для вирусов гриппа, респираторно-синцитиального вируса и SARS-CoV-2 может варьировать в широких пределах. В связи с этим при выполнении исследований в клинической лаборатории серьезную опасность представляет риск кросс-контаминации между образцами на всех этапах работы, особенно при аликвотировании и выделении РНК. Перекрестная контаминация высококопийным биоматериалом может приводить к появлению спорадических ложноположительных результатов.

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

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

7.1. Выделение РНК

Для выделения РНК рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов, имеющие регистрационные удостоверения на медицинское изделие и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования РНК методом ОТ-ПЦР, например, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-S, ПРОБА-МЧ-НК-S, ПРОБА-МЧ DWP, ПРОБА-МЧ-РАПИД II (таблица 3).

Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого комплекта/набора реагентов.

Для выделения РНК используется **100 мкл** биоматериала.

ВНИМАНИЕ!

1. Объем полученного препарата РНК должен составлять не более 50 мкл. В случае применения для выделения РНК наборов реагентов ПРОБА-МЧ-НК-S, ПРОБА-МЧ DWP и ПРОБА-МЧ-РАПИД II возможно увеличение объема до 100 мкл.
2. Полученный препарат РНК необходимо в течение двух часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Допускается однократное замораживание и хранение препарата РНК при температуре не выше минус 18 °С не более 7 суток.

Таблица 3 – Комплекты/наборы реагентов, валидированные для выделения РНК для дальнейшего исследования набором реагентов SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В

Комплект/набор реагентов, РУ	Комплектация	Биоматериал
ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС, РУ № ФСР 2010/08867	ПРОБА-НК	Мазки из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота
	ПРОБА-НК (сокращенная методика в соответствии с Приложением Б)	Мазки из носоглотки, ротоглотки
ПРОБА-НК-S, РУ № РЗН 2020/11296	ПРОБА-НК-S	Мазки из носоглотки, ротоглотки
ПРОБА-МЧ-НК-S, РУ № РЗН 2021/15267	ПРОБА-МЧ-НК-S	Мазки из носоглотки, ротоглотки
ПРОБА-МЧ DWP, РУ № РЗН 2021/15090	ПРОБА-МЧ DWP	Мазки из носоглотки, ротоглотки
ПРОБА-МЧ-РАПИД II РУ № РЗН 2024/23205	ПРОБА-МЧ-РАПИД II	Мазки из носоглотки, ротоглотки

Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот
Внутренний контрольный образец

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

В качестве внутреннего контрольного образца при выделении РНК необходимо использовать **внутренний контрольный образец РНК-БК "А"** из набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В.

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

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

Отрицательный контрольный образец

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

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

Для этого рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав набора/комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот в объеме, указанном в инструкции по применению соответствующего набора/комплекта реагентов.

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

ВНИМАНИЕ!

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

2. При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы» следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

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

Пример:

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

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

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

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

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

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

Пример:

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

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

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

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

7.2.5. Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 15 мкл смеси ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT.

ВНИМАНИЕ! После добавления смеси ОТ-ПЦР-буфера и фермента Taq/RT в пробирки со смесью для амплификации необходимо сразу же выполнить 7.2.6 - 7.2.12.

7.2.6. Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Перед внесением в пробирки с реакционной смесью препарата РНК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата РНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения РНК комплекта реагентов ПРОБА-НК и набора реагентов ПРОБА-НК-S встряхните пробирки с препаратом РНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

3. При использовании для выделения РНК набора реагентов ПРОБА-МЧ DWP центрифугируйте заклеенный плёнкой глубоколоночный планшет с препаратом РНК и отрицательным контрольным образцом при RCF(g) 100 в течение 30 с для осаждения конденсата и снимите плёнку.

4. Для предотвращения контаминации следует перед внесением РНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед использованием следующего. Препараты РНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

- 7.2.7. Внесите, не повреждая слой парафина, в соответствующие пробирки по 10 мкл полученного из образцов препарата РНК.
- 7.2.8. Внесите, не повреждая слой парафина, в пробирку, промаркированную «К-», 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК.
- 7.2.9. Внесите, не повреждая слой парафина, в пробирку, промаркированную «К+», 10 мкл положительного контрольного образца.
- 7.2.10. Центрифугируйте пробирки/стрипы в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.11. Установите все пробирки/стрипы в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР (7.2.12).
- 7.2.12. Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ОТ-ПЦР загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ОТ-ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 4.

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	35	15	0	1		Цикл
2	92	0	30	1		Цикл
3	92	0	10	8	√	Цикл
	64	0	15			
4	90	0	5	40	√	Цикл
	64	0	15			
5	64	0	5	1		Цикл
6	25 ²	...	...	Хранение		Хранение

√ - режим оптических измерений

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации.

¹ - тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении А) или предоставляется производителем набора реагентов.

² - допускается хранение при температуре 10 °C

9. УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Учёт результатов осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором. Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 5. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Таблица 5 – Интерпретация результатов ОТ-ПЦР

Канал детекции					Интерпретация результата
Fam, Cp	Hex, Cp	Rox, Cp	Cy5, Cp	Cy5.5, Cp	
Неизвестные образцы					
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК респираторно-синцициального вируса (RSV)
Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Не указан	Обнаружена РНК Influenza B virus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Influenza A virus
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не указан	Не обнаружена РНК выявляемых вирусов
Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Недостовверный результат.
Отрицательный контрольный образец					
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец					
Указан	Не учитывается	Указан	Указан	Указан	Положительный результат Результаты постановки валидны

9.2. Недостовверный результат может быть связан с присутствием ингибиторов в препарате НК, полученном из биологического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется повторное проведение ОТ-ПЦР с имеющимся препаратом НК, либо повторное выделение НК и постановка ОТ-ПЦР для этого образца, либо повторное взятие биологического материала у пациента (выполняется последовательно).

- 9.3. При микст-инфицировании возможны различные комбинации выявленных вирус-возбудителей ОРВИ.
- 9.4. При получении положительного результата для отрицательного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.
- 9.5. При получении отрицательного результата для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

Предупреждения

Единичный отрицательный результат исследования, особенно если это образец из верхних дыхательных путей, не исключает инфекции.

Отрицательные результаты не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациентов.

Если для биологического образца регистрируется рост уровня флуоресценции для специфического продукта ранее 25 цикла по C_T , то это говорит о высокой первоначальной концентрации РНК соответствующего возбудителя. В данном случае возможно получение ложноотрицательного результата при микст-инфицировании для возбудителя, РНК которого присутствует в низкой концентрации. Для исключения ложноотрицательных результатов рекомендуется повторно провести ОТ-ПЦР для выделенного препарата РНК с использованием набора реагентов для индивидуального выявления соответствующего вируса.

10. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1. Транспортирование

- 10.1.1. Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.
- 10.1.2. Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.
- 10.1.3. Допускается транспортирование фермента Taq/RT в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °С не более 5 суток.
- 10.1.4. Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.2. Хранение

- 10.2.1. Все компоненты набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в защищённом от света месте.
- 10.2.2. Фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 10.2.3. Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.3. Указания по эксплуатации

- 10.3.1. Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.
- 10.3.2. Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.
- 10.3.3. После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:
 - все компоненты набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
 - смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте

- в течение всего срока годности набора реагентов;
- фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 10.3.4. Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

11. УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

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

12. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

- 12.1. Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации.
- 12.2. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

13. РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

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

14. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Температурный диапазон		Номер по каталогу
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Изготовитель
	Использовать до		Не допускать воздействия солнечного света
	Код партии (серии)		Нестерильно
	Дата изготовления		

15. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ ISO 14971-2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

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

ГОСТ Р 2.105-2019 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам

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

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

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

ГОСТ Р ИСО 15190-2023 Лаборатории медицинские. Требования безопасности

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

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.

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.

16. АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

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

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

Адрес производителя:

117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства:

- ООО «НПО ДНК-Технология», 142281, Россия, Московская обл. г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 3.
- ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

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

Служба клиентской поддержки:

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

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

E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

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



Д.Д. Абрамов
«18» декабря 2024г.

Приложение А

**Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение
детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»**

при использовании набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В

- 1) Количество пробирок в тесте – 1;
- 2) Объём реакционной смеси – 40 мкл;
- 3) В окне «Программа амплификации» ввести следующие параметры:

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	35	15	0	1		Цикл
2	92	0	30	1		Цикл
3	92	0	10	8	√	Цикл
	64	0	15			
4	90	0	5	40	√	Цикл
	64	0	15			
5	64	0	5	1		Цикл
6	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение
√- режим оптических измерений						

- 4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
RSV	БК	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	Influenza B virus	Influenza A virus

¹ - допускается хранение при температуре 10 °C

Приложение Б**Сокращенная методика выделения РНК****из исследуемого материала (мазки из носоглотки и ротоглотки)****с использованием комплекта реагентов ПРОБА-НК.****ВНИМАНИЕ!**

1. Перед началом работы необходимо достать из холодильника комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот и проконтролировать отсутствие осадка в лизирующем растворе. В случае выпадения осадка необходимо прогреть флакон с лизирующим раствором на термостате при 65 °С в течение 15 мин. Затем следует перемешать раствор переворачиванием флакона вверх дном 5–10 раз, избегая пенообразования.
2. При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Следует использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.», производства ООО «НПО ДНК-Технология»).
1. Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объёмом 1,5 мл (с защёлкивающимися крышками, если необходимо) с учетом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).
2. Внесите в каждую пробирку по 10 мкл предварительно перемешанного на микроцентрифуге-вортексе внутреннего контрольного образца РНК-ВК "А" из набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В.
3. Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки.
4. Внесите соответствующие промаркированные пробирки по 100 мкл исследуемого материала.
5. Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 100 мкл отрицательного контрольного образца.
6. Плотно закройте пробирки, встряхните в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.
7. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин.
8. Центрифугируйте пробирки в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.
9. Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
10. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
11. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

12. Добавьте к осадку по 500 мкл промывочного раствора №1, закройте пробирки и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.
13. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 1 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
14. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
15. Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, закройте пробирки и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.
16. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 1 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
17. Не задевая осадок, удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки). Допускается оставить жидкость, покрывающую осадок, объемом не более 20–30 мкл.
18. Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
19. Добавьте к осадку **50 мкл** буфера для растворения, встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и осадите капли центрифугированием пробирок в течение 3–5 с.
20. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин. Встряхните пробирки в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.
21. Осадите конденсат центрифугированием при RCF(g) 12000–16000 в течение 30 с при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

Препарат РНК готов к внесению в реакционную смесь для ОТ-ПЦР.

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

Перед использованием препарата РНК для постановки ОТ-ПЦР после хранения необходимо разморозить препарат РНК при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С, затем встряхнуть пробирки с препаратом РНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

Препарат РНК готов к внесению в реакционную смесь для ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Для препарата РНК допускается только однократное размораживание!

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 31

(Исходный) листа (ов)
специалист по регистрации
Щербакова Н.И. [Signature]



3 **Регистрация и учёт результатов ОТ-ПЦР** проводятся автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов. Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 4. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Т а б л и ц а 4 - Интерпретация результатов ОТ-ПЦР

Канал детекции					Интерпретация результата
Fam, Cp	Hex, Cp	Rox, Cp	Cy5, Cp	Cy5.5, Cp	
Неизвестные образцы					
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК респираторно-синцициального вируса (RSV)
Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Не указан	Обнаружена РНК Influenza B virus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Influenza A virus
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не указан	Не обнаружена РНК выявляемых вирусов
Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Недостовверный результат
Отрицательный контрольный образец					
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец					
Указан	Не учитывается	Указан	Указан	Указан	Положительный результат Результаты постановки валидны

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

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

Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Допускается транспортирование фермента Taq/RT в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °С не более 5 суток.

Все компоненты набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в защищенном от света месте.

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

Срок годности набора – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

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

Служба клиентской поддержки: 8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),

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

E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru



Служба клиентской поддержки:
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный)
E-mail: hotline@dna-technology.ru,
www.dna-technology.ru

Регистрационное удостоверение
№ РЗН _____



В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В. Перед началом работы изучите инструкцию.

Набор реагентов выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцициального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В)

REF

R3-P457-S3/9 (Фасовка S, стрипы)
R3-P457-23/9 (Фасовка S, пробирки)

Информация о наборе реагентов

Назначение:

Набор реагентов предназначен для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцициального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) в биологическом материале человека (мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

Специализированное оборудование:

Детектирующие амплификаторы планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, детектирующие амплификаторы «ДТпрайм»¹, «ДТлайт»² (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Время проведения анализа (включая пробоподготовку): от 2 часов (в зависимости от количества образцов и используемого набора/комплекта реагентов для выделения РНК).

Количество анализируемых образцов:

96 определений (не более 12 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

Состав набора:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	96 пробирок или 12 стрипов по 8 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,62 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" ³	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец ³	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов ⁴		12 шт.	

¹ – модификация 5M*

² – модификация 5S*

³ – на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+», «Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"» указывается как «РНК-ВК "А"»

⁴ – входят в состав набора реагентов при расфасовке смеси для амплификации, запечатанной парафином, в стрипы



Таблица 1 - Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
RSV	BK*	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	Influenza B virus	Influenza A virus

* - внутренний контрольный образец РНК-БК "А"

Проведение анализа

1 Выделение РНК

Для выделения РНК рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов, имеющие регистрационные удостоверения на медицинское изделие и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования ДНК методом ПЦР, например, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-S, ПРОБА-МЧ-НК-S, ПРОБА-МЧ-DWP, ПРОБА-МЧ-РАПИД II (таблица 2). Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого комплекта/набора реагентов.

Таблица 2 - Наборы/комплекты реагентов, валидированные для использования совместно с набором SARS-CoV-2/RSV/Грипп Комплекс

Биоматериал	ПРОБА-НК	ПРОБА-НК (сокращенная методика) ¹	ПРОБА-НК-S	ПРОБА-МЧ-НК-S	ПРОБА-МЧ-DWP	ПРОБА-МЧ-РАПИД II
Мазки из носоглотки, ротоглотки	+	+	+	+	+	+
Бронхоальвеолярный лаваж Эндоотрахеальный, назофарингеальный аспират Мокрота	+	-	-	-	-	-

В ходе подготовки мазков из носоглотки и ротоглотки, взятых в пробирку с транспортной средой, образцов бронхоальвеолярного лаважа, эндоотрахеального, назофарингеального аспирата предварительное центрифугирование не требуется.

Для выделения используется **100 мкл образца**.

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

В случае применения для выделения РНК наборов реагентов ПРОБА-МЧ-НК-S и ПРОБА-МЧ-DWP возможно увеличение объема до 100 мкл.

Внутренний контрольный образец. В качестве внутреннего контрольного образца при выделении РНК использовать внутренний контрольный образец РНК-БК "А" из набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В.

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

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением РНК из биологического материала необходимо подготовить **отрицательный контрольный образец** и провести его через все этапы пробоподготовки. Для этого рекомендуется использовать физиологический раствор или отрицательный контрольный образец, входящий в состав набора/комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот в объеме, указанном в инструкции по применению соответствующего набора/комплекта реагентов.

2 Подготовка и проведение реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции

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

ВНИМАНИЕ! При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы», следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

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

Пример:

Необходимо проанализировать 6 образцов. Нужно промаркировать 6 пробирок для неизвестных образцов, одну для «К-» и одну для «К+». Общее количество пробирок – 8.

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

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

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

- 15 × (N+1) мкл ОТ-ПЦР-буфера,
 - 0,5 × (N+1) мкл фермента Taq/RT,
- где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К-» и «К+».

2.4 Тщательно перемешайте содержимое пробирки с приготовленной смесью ОТ-ПЦР-буфера и фермента Taq/RT на микроцентрифуге-вortexе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вortexе.

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

2.5 Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 15 мкл смеси ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT.

ВНИМАНИЕ! После добавления смеси ОТ-ПЦР-буфера и фермента Taq/RT в пробирки со смесью для амплификации необходимо сразу же выполнить 2.6 – 2.12.

2.6 Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вortexе в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вortexе в течение 1-3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Перед внесением в пробирки с реакционной смесью препарата РНК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата РНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения РНК.
2. При использовании для выделения РНК комплекта реагентов ПРОБА-НК и набора реагентов ПРОБА-НК-S встряхните пробирку с препаратом РНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вortexе в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вortexе в течение 1-3 с.
3. При использовании для выделения РНК набора реагентов ПРОБА-МЧ DWP центрифугируйте заклеенный плёнкой глубоколуночный планшет с препаратом РНК и отрицательным контрольным образцом при RCF(g) 100 в течение 30 с для осаждения конденсата и снимите плёнку.
4. Для предотвращения контаминации следует перед внесением РНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед использованием следующего. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты РНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

2.7 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл выделенного из образцов препарата РНК. В пробирки, промаркированные «К-», «К+», РНК не вносится.

2.8 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», не повреждая слой парафина, 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК.

2.9 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 10 мкл положительного контрольного образца.

2.10 Центрифугируйте пробирки/стрипы в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вortexе.

2.11 Установите все пробирки/стрипы в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР (2.12).

2.12 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ОТ-ПЦР загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ОТ-ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

Таблица 3 - Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	35	15	0	1		Цикл
2	92	0	30	1		Цикл
3	92	0	10	8	√	Цикл
	64	0	15			
4	90	0	5	40	√	Цикл
	64	0	15			
5	64	0	5	1		Цикл
6	25 ²	...	...	Хранение		Хранение
√- режим оптических измерений						

¹ - тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении А инструкции по применению) или предоставляется производителем набора реагентов.

² - допускается хранение при температуре 10 °C

Паспорт качества № XXXXXX

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В)

Фасовка S, стрипы

Серия: XXXXXX-XX
 Дата изготовления: XXXX-XX-XX
 Годен до: XXXX-XX-XX*

Результат контроля

1. Проверка комплектности, упаковки и маркировки – соответствует требованиям ТУ 21.20.23-017-89545560-2024.
2. Проверка состава набора и внешнего вида компонентов

Компонент	Серия компонента	Количество	Характеристика и норма	Условия хранения	Результат
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	XXX	12 стрипов по 8 пробирок по 15 мкл	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	от 2 °C до 8 °C	Соответствует
ОТ-ПЦР-буфер	XXX	1 пробирка 1,62 мл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °C до 8 °C	Соответствует
Фермент Taq/RT	XXX	1 пробирка 55 мкл	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	от минус 22 °C до минус 18 °C	Соответствует
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	XXX	1 пробирка 1,0 мл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °C до 8 °C	Соответствует
Положительный контрольный образец	XXX	1 пробирка 130 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °C до 8 °C	Соответствует
Крышки для стрипов	-	12 шт.	-	-	Соответствует

3. Проверка функциональных показателей

Наименование показателя	Характеристика и норма	Результат
Предел обнаружения: по 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку	Для лабораторных контрольных образцов должен быть зафиксирован положительный результат амплификации специфичных продуктов по соответствующим каналам детекции Fam, Rox, Cy5 и Cy5.5	Соответствует
Специфичность	Для лабораторных контрольных образцов должен быть зафиксирован положительный результат амплификации специфичных продуктов по соответствующим каналам детекции Fam, Rox, Cy5 и Cy5.5	Соответствует
	Для отрицательного контрольного образца должен быть зафиксирован отрицательный результат амплификации специфичных продуктов по каналам детекции Fam, Rox, Cy5, Cy5.5 и положительный результат амплификации внутреннего контроля по каналу детекции Hex	

Условия транспортирования:

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

Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2°C до 25°C не более 5 суток.

Допускается транспортирование фермента Taq/RT в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25°C не более 5 суток.

Заключение ОТК: соответствует требованиям ТУ 21.20.23-017-89545560-2024

Дата выдачи паспорта: xxxx-xx-xx

*Срок годности в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-017-89545560-2024



Паспорт качества № XXXXXX

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В)

Фасовка S, пробирки

Серия: XXXXXX-XX
Дата изготовления: XXXX-XX-XX
Годен до: XXXX-XX-XX*

Результат контроля

1. Проверка комплектности, упаковки и маркировки – соответствует требованиям ТУ 21.20.23-017-89545560-2024.
2. Проверка состава набора и внешнего вида компонентов

Компонент	Серия компонента	Количество	Характеристика и норма	Условия хранения	Результат
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	XXX	96 пробирок по 15 мкл	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
ОТ-ПЦР-буфер	XXX	1 пробирка 1,62 мл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Фермент Taq/RT	XXX	1 пробирка 55 мкл	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	от минус 22 °С до минус 18 °С	Соответствует
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	XXX	1 пробирка 1,0 мл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Положительный контрольный образец	XXX	1 пробирка 130 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует

3. Проверка функциональных показателей

Наименование показателя	Характеристика и норма	Результат
Предел обнаружения: по 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку	Для лабораторных контрольных образцов должен быть зафиксирован положительный результат амплификации специфических продуктов по соответствующим каналам детекции Fam, Rox, Cy5 и Cy5.5	Соответствует
Специфичность	Для лабораторных контрольных образцов должен быть зафиксирован положительный результат амплификации специфических продуктов по соответствующим каналам детекции Fam, Rox, Cy5 и Cy5.5	Соответствует
	Для отрицательного контрольного образца должен быть зафиксирован отрицательный результат амплификации специфических продуктов по каналам детекции Fam, Rox, Cy5, Cy5.5 и положительный результат амплификации внутреннего контроля по каналу детекции Hex	

Условия транспортирования:

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

Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2°С до 25°С не более 5 суток.

Допускается транспортирование фермента Taq/RT в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25°С не более 5 суток.

Заключение ОТК: соответствует требованиям ТУ 21.20.23-017-89545560-2024

Дата выдачи паспорта: xxxx-xx-xx

*Срок годности в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-017-89545560-2024

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью к

(два) листа (ов)
специалист по регистрации
Щербакова Н.И. [Signature]



Паспорт качества № XXXXXX

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В)

Фасовка S, стрипы

Серия: XXXXXX-XX
Дата изготовления: XXXX-XX-XX
Годен до: XXXX-XX-XX*

Результат контроля

1. Проверка комплектности, упаковки и маркировки – соответствует требованиям ТУ 21.20.23-017-89545560-2024.
2. Проверка состава набора и внешнего вида компонентов

Компонент	Серия компонента	Количество	Характеристика и норма	Условия хранения	Результат
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	XXX	12 стрипов по 8 пробирок по 15 мкл	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
ОТ-ПЦР-буфер	XXX	1 пробирка 1,62 мл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Фермент Taq/RT	XXX	1 пробирка 55 мкл	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	от минус 22 °С до минус 18 °С	Соответствует
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	XXX	1 пробирка 1,0 мл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Положительный контрольный образец	XXX	1 пробирка 130 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Крышки для стрипов	-	12 шт.	-	-	Соответствует

3. Проверка функциональных показателей

Наименование показателя	Характеристика и норма	Результат
Предел обнаружения: по 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку	Для лабораторных контрольных образцов должен быть зафиксирован положительный результат амплификации специфичных продуктов по соответствующим каналам детекции Fam, Rox, Cy5 и Cy5.5	Соответствует
Специфичность	Для лабораторных контрольных образцов должен быть зафиксирован положительный результат амплификации специфичных продуктов по соответствующим каналам детекции Fam, Rox, Cy5 и Cy5.5 Для отрицательного контрольного образца должен быть зафиксирован отрицательный результат амплификации специфичных продуктов по каналам детекции Fam, Rox, Cy5, Cy5.5 и положительный результат амплификации внутреннего контроля по каналу детекции Hex	Соответствует

Условия транспортирования:

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

Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2°С до 25°С не более 5 суток.

Допускается транспортирование фермента Taq/RT в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25°С не более 5 суток.

Заключение ОТК: соответствует требованиям ТУ 21.20.23-017-89545560-2024

Дата выдачи паспорта: xxxx-xx-xx

*Срок годности в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-017-89545560-2024

Паспорт качества № XXXXXX

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В)

Фасовка S, пробирки

Серия: XXXXXX-XX
Дата изготовления: XXXX-XX-XX
Годен до: XXXX-XX-XX*

Результат контроля

1. Проверка комплектности, упаковки и маркировки – соответствует требованиям ТУ 21.20.23-017-89545560-2024.
2. Проверка состава набора и внешнего вида компонентов

Компонент	Серия компонента	Количество	Характеристика и норма	Условия хранения	Результат
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	XXX	96 пробирок по 15 мкл	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
ОТ-ПЦР-буфер	XXX	1 пробирка 1,62 мл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Фермент Taq/RT	XXX	1 пробирка 55 мкл	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	от минус 22 °С до минус 18 °С	Соответствует
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	XXX	1 пробирка 1,0 мл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Положительный контрольный образец	XXX	1 пробирка 130 мкл	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует

3. Проверка функциональных показателей

Наименование показателя	Характеристика и норма	Результат
Предел обнаружения: по 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку	Для лабораторных контрольных образцов должен быть зафиксирован положительный результат амплификации специфичных продуктов по соответствующим каналам детекции Fam, Rox, Cy5 и Cy5.5	Соответствует
Специфичность	Для лабораторных контрольных образцов должен быть зафиксирован положительный результат амплификации специфичных продуктов по соответствующим каналам детекции Fam, Rox, Cy5 и Cy5.5 Для отрицательного контрольного образца должен быть зафиксирован отрицательный результат амплификации специфичных продуктов по каналам детекции Fam, Rox, Cy5, Cy5.5 и положительный результат амплификации внутреннего контроля по каналу детекции Hex	Соответствует

Условия транспортирования:

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

Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2°С до 25°С не более 5 суток.

Допускается транспортирование фермента Taq/RT в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25°С не более 5 суток.

Заключение ОТК: соответствует требованиям ТУ 21.20.23-017-89545560-2024

Дата выдачи паспорта: xxxx-xx-xx

Срок годности в соответствии с требованиями ТУ 21.20.23-017-89545560-2024



(два) листа (ов)
специалист по регистрации
Щербакова Н.И.



Паспорт качества

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В)

Комплект лабораторных контрольных образцов (ЛКО)

Серия:	L1406
Дата изготовления:	2024-06-14
Срок годности:	до 2025-06-14
Условия хранения	от 2 °С до 8 °С
Условия транспортирования:	от 2 °С до 25 °С

Результат контроля

Наименование ЛКО	ЛКО-1 (RSV, Коронавирус SARS-CoV-2, ген E, Influenza A virus) ЛКО-2 (Коронавирус SARS-CoV-2, ген N, Influenza B virus)
Концентрация НК, копий/мл	1,0x10 ³
Характеристика и норма	Должен быть зафиксирован положительный результат амплификации специфичных продуктов по соответствующим каналам детекции Fam (RSV), Rox (SARS-CoV-2, ген E) и Cy5.5 (Influenza A virus) для ЛКО-1; Rox (SARS-CoV-2, ген N) и Cy5 (Influenza B virus) для ЛКО-2.
Фактические значения	Зафиксирован положительный результат амплификации специфичных продуктов по соответствующим каналам детекции Fam (RSV), Rox (SARS-CoV-2, ген E) и Cy5.5 (Influenza A virus) для ЛКО-1; Rox (SARS-CoV-2, ген N) и Cy5 (Influenza B virus) для ЛКО-2.
Результат	Соответствует

Заключение: соответствует требованиям регламента производства № 64

Дата выдачи паспорта: 2024-06-14

