

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «ЭВОТЭК-МИРАЙ ГЕНОМИКС»

Л. Н. Валеев

«10» октября 2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор для выявления РНК коронавируса
SARS-CoV-2 в биологическом материале методом изотермической
амплификации в режиме реального времени в вариантах исполнения
по ТУ 21.10.60-004-06931260-2020.

Регистрационное удостоверение на медицинское изделие
№ РЗН 2020/10088

СМЛР.390706.001.500РЭ
Версия 3.0

2022

НАИМЕНОВАНИЕ

Набор для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом изотермической амплификации в режиме реального времени в вариантах исполнения по ТУ 21.10.60-004-06931260-2020:

Вариант исполнения 1. 24 определения:

1. Реагент Е, прозрачная бесцветная жидкость, 160 мкл, 1 пробирка;
2. Реагент Р, прозрачная бесцветная жидкость, 110 мкл, 1 пробирка;
3. Положительный контрольный образец, прозрачная бесцветная жидкость, 150 мкл, 1 пробирка;
4. Отрицательный контрольный образец, прозрачная бесцветная жидкость, 150 мкл, 1 пробирка;
5. Эксплуатационная документация:
 - 5.1 Инструкция по применению;
 - 5.2 Паспорт.

Вариант исполнения 2. 96 определений:

1. Реагент Е, прозрачная бесцветная жидкость, 0,6 мл, 1 пробирка;
2. Реагент Р, прозрачная бесцветная жидкость, 0,4 мл, 1 пробирка;
3. Положительный контрольный образец, прозрачная бесцветная жидкость, 150 мкл, 1 пробирка;
4. Отрицательный контрольный образец, прозрачная бесцветная жидкость, 150 мкл, 1 пробирка;
5. Эксплуатационная документация:
 - 5.1 Инструкция по применению;
 - 5.2 Паспорт.

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ

Общество с ограниченной ответственностью «ЭВОТЭК-МИРАЙ ГЕНОМИКС»
(ООО «ЭВОТЭК-МИРАЙ ГЕНОМИКС»)
Адрес: Россия, 420500, Республика Татарстан, Верхнеуслонский район, г. Иннополис, ул. Университетская, д. 7, пом.68.

Производственная площадка:
ООО «ЭВОТЭК-МИРАЙ ГЕНОМИКС»
Адрес: Россия, Республика Татарстан, 422616, р-н Лаишевский муниципальный, с/п Столбищенское, с. Усады, ул. Дорожная, д 42 корпус 1.

Адрес: Россия, 422623, Республика Татарстан, Лаишевский район, село Большие Кабаны, Выставочная улица, 1а.

ООО «Сигма Лаб»
Адрес: Россия, 143026, Москва, территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар д.42 стр. 1 этаж 3, помещение 785.

НАЗНАЧЕНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

Набор для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом изотермической амплификации в режиме реального времени в вариантах исполнения по ТУ 21.10.60-004-06931260-2020 (далее по тексту - набор, изделие) предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в мазках со слизистой носоглотки и ротоглотки пациента.

Набор предназначен для клинической лабораторной диагностики.

Условия применения: лечебные и лечебно-профилактические медицинские учреждения, клиничко-диагностические лаборатории, лаборатории учреждений общего, специального и высшего образования, в мобильных лабораториях на основе автошасси и пневмокаракасах (СПЭБ) и иные временные лаборатории, имеющие санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями III-IV группы патогенности с использованием методов диагностики, не предполагающих накопление возбудителя, соответствующие условия работы и обученный персонал.

Устройство пробоподготовки для выделения нуклеиновых кислот вирусов из биологического материала для проведения изотермической амплификации вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.60.12-001-06931260-2020 РУ №РЗН 2020/10089, Набор реагентов для выделения РНК вируса SARS-CoV-2 из биологического материала в вариантах исполнения по ТУ 21.10.60-002-06931260-2020, Амплификатор изотермический для детекции РНК вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.51.53-003-06931260-2020 РУ № РЗН 2020/10090, Набор для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом изотермической амплификации в режиме реального времени в вариантах исполнения по ТУ 21.10.60-004-06931260-2020 РУ № РЗН 2020/10088, составляют единую по функциональному назначению мини – лабораторию для тестирования биологического материала на наличие РНК вируса SARS-CoV-2 без выделения возбудителя (COVID-19).

Согласно Приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 29 мая 2020 г. № 513н., согласно которому вносятся изменения в Приказ Минздрава России № 198н «О временном порядке организации работы медицинских организаций в целях реализации мер по профилактике и снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции COVID-19» и постановлению Роспотребнадзора №6 от 13.03.2020 «О дополнительных мерах по снижению рисков распространения COVID-19» для диагностики новой коронавирусной инфекции необходимо использование методов, не предполагающих выделение возбудителя. К методам петлевой изотермической амплификации относится метод изотермической амплификации в режиме реального времени.

Показания и противопоказания к применению набора реагентов

Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания, подозрительного на инфекцию, вызванную SARS-CoV-2, в особенности прибывающим из эпидемиологически неблагополучных регионов сразу после первичного осмотра, а также контактными лицам.

Противопоказания отсутствуют, за исключением случаев, когда взятие материала не может быть осуществлено в связи с медицинскими противопоказаниями.

Не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

Не использовать набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

Не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

Потенциальные пользователи медицинского изделия

К работе с набором реагентов допускаются медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

Компоненты набора являются одноразовыми. Набор не требует технического обслуживания и калибровки.

Комплект поставки набора для проведения 24 / 96 определений указан в таблице ниже:

№ п/п	Наименование	Кол-во, шт.
1	Набор для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом изотермической амплификации в режиме реального времени, в составе 24 /96 определений:	
1.1	Реагент Е, прозрачная бесцветная жидкость, 160 мкл / 0,6 мл;	1
1.2	Реагент Р, прозрачная бесцветная жидкость, 110 мкл / 0,4 мл;	1
1.3	Положительный контрольный образец, прозрачная бесцветная жидкость, 150 мкл;	1
1.4	Отрицательный контрольный образец, прозрачная бесцветная жидкость, 150 мкл.	1
1.5	Эксплуатационная документация	---
1.5.1	Инструкция по применению	1
1.5.2	Паспорт	1

Реагент Е расфасован по 160 мкл или 0,6 мл (в зависимости от варианта исполнения) в микропробирку вместимостью 1,2 мл. Состав: Тризма, Ацетат калия, Сульфат аммония, Сульфат магния, Твин 20, dNTP, Безнуклеазная дистиллированная вода, ДНК-полимераза AacPoll, Ревертаза AMV-RT.

Реагент Р расфасован по 110 мкл или 0,4 мл (в зависимости от варианта исполнения) в микропробирку вместимостью 1,2 мл. Состав: Безнуклеазная дистиллированная вода, 6 ассиметричных праймеров Смарт амп.

Положительный контрольный образец расфасован по 150 мкл в микропробирку объемом 1,2 мл. Состав: водная суспензия синтезированного in vitro стабилизированного фрагмента РНК генома коронавируса SARS-CoV-2.

Отрицательный контрольный образец расфасован по 150 мкл в микропробирку объемом 1,2 мл. Состав: Безнуклеазная дистиллированная вода.

Набор реагентов упаковывают в фольгированный пакет.

Количество анализируемых проб

Набор рассчитан на проведение 24 / 96 определений (в зависимости от варианта исполнения) включая контроли.

Принцип метода: Метод основан на выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2 из подготовленного биологического материала методом изотермической амплификации с флуоресцентной детекцией SmartAmp в режиме реального времени. В методе используется технология изотермической амплификации нуклеиновых кислот (НК) при температуре реакции 65,0-68,0 °C для Амплификатора изотермического для детекции РНК вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.51.53-003-06931260-2020 (ПУ № РЗН 2020/10090). При использовании других амплификаторов (например, «CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System», «Bio-Rad», США, ПУ № ФСЗ 2008/03399) температура реакции составляет 67,0 °C.

Ограничения метода: В инфицированном материале РНК вирусов может быть не обнаружена по причине, если концентрация вируса составляет менее 1×10^4 копий/мл.

В инфицированном материале РНК вирусов может быть не обнаружена по причине недостаточной эффективности выделения нуклеиновых кислот. Для достижения показателей аналитической чувствительности используемый набор для выделения должен обеспечивать эффективность выделения НК на уровне не менее 20%.

Причиной получения ложноположительного результата может быть ингибирование реакции, недостаточная эффективность выделения НК.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИЗДЕЛИЯ

Аналитическая чувствительность

Предел обнаружения набора реагентов:

а) при использовании SmartAmp Liquid Reagent for IPC RNA detection:

1×10^4 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл (копий/мл)

б) при использовании препарата суммарных нуклеиновых кислот культуры клеток Vero E6 и штамма коронавируса SARS-CoV-2 «ГК2020/1»:

– 1×10^4 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл (копий/мл);

– 1×10^2 TCID₅₀ на 1 мл (TCID₅₀/мл*);

в) при использовании препарата суммарных нуклеиновых кислот культуры клеток Vero E6 и штамма коронавируса SARS-CoV-2, изолят В:

– 1×10^4 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл (копий/мл);

– 12,6 БОЕ** на 1 мл (БОЕ/мл) или 1,1 lg БОЕ/мл.

*TCID₅₀ – пятидесятипроцентная инфекционная доза культуры ткани;

**БОЕ – бляшкообразующие единицы.

Аналитическая специфичность

Набор реагентов не дает перекрестных реакций при исследовании ДНК/РНК следующих микроорганизмов: Streptococcus pneumoniae ССВН-101/14, Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619™, Haemophilus influenzae ATCC® 49247™, вирус парагриппа 1-го типа Сендай, вирус гриппа А А/Anhui/1/2013 (H7N9), аденовирус 5 типа 394, вирус гриппа В В/Москва/46/2019, метапневмовирус человека НМ-1, 2476.

Диагностическая чувствительность набора реагентов 100,0% (95% ДИ: 94,8-100).

Диагностическая специфичность набора реагентов 100,0% (95% ДИ: 96,3-100).

Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала

Вещества в концентрациях, указанных в таблице, не оказывают интерферирующего действия и влияют на эффективность выделения РНК.

№ п/п	Интерферент	Концентрация в пробе
1	Гемоглобин (кровь)	5% v/v
2	Хлоргексидин	0,5%

Воспроизводимость

Коэффициент вариации – не более 20%.

Расход реагентов на реакцию:

Наименование	Функция	Необходимый объем на реакцию, мкл
Реагент Е	Ферментативный катализ амплификации целевой НК	6
Реагент Р	Праймеры, необходимые для инициации процесса изотермической амплификации в режиме реального времени и детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени	4
Положительный контрольный образец	Контроль правильности определения целевого анализата – РНК вируса SARS-CoV-2	10
Отрицательный контрольный образец	Контроль правильности определения целевого анализата – РНК вируса SARS-CoV-2	10

Количество (объем) компонентов в наборе на 24 / 96 определений:

Наименование	Число пробирок в наборе	Объем заполнения, мл (24 / 96 определений)
Реагент Е	1 шт.	0,160 / 0,600 (± 0,005)
Реагент Р	1 шт.	0,110 / 0,400 (± 0,005)
Положительный контрольный образец	1 шт.	0,150 (± 0,005)
Отрицательный контрольный образец	1 шт.	0,150 (± 0,005)

Контроль теста:

Каждый набор комплектуется Положительным и Отрицательным контрольными образцами для контроля реакции. ПЦР-реакция для выявления РНК коронавируса в тестовых и контрольных образцах выполняется параллельно.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Все работы согласно пункту 3 методических рекомендаций МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» лаборатории, имеющие санитарно – эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний III-IV патогенности и условия для работы методом (ПЦР), могут организовывать работу по диагностике COVID-19 без выделения возбудителя, так же согласно п.3.3.5 методических рекомендаций МР 3.1. 0173- 20 « Организация противоэпидемических мероприятий в период пандемии COVID-19» к методам диагностики COVID-19 без выделения возбудителя относятся методы ПЦР и ИФА.

Все работы по отбору проб от больных, транспортирование и все этапы лабораторного исследования проводятся в строгом соответствии с рекомендациями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», МР 3.1. 0173 - 20 « Организация противоэпидемических мероприятий в период пандемии COVID-19» и Временными методическими рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCov) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), утвержденными Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации.

Материалы для исследований подлежат предварительной обработке в соответствии с методическими рекомендациями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», МР 3.1. 0173 - 20 « Организация противоэпидемических мероприятий в период пандемии COVID-19» и Временными методическими рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCov) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), утвержденными Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации. При работе необходимо выполнять следующие требования:

- рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как потенциально опасные;
- инактивировать исходные исследуемые образцы биологического материала;
- осуществлять работу в соответствии с методическими рекомендациями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», МР 3.1.0173-20 «Организация противоэпидемических мероприятий в период пандемии COVID-19».

Необходимо одновременно обеспечивать соблюдение персоналом правил биологической безопасности и требования к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами исследуемых проб помещений и оборудования.

Потенциальный риск применения набора – класс 3 (п. 9 приложения № 2 к приказу Минздрава России от 06.06.2012 № 4).

Необходимое обучение персонала

К работе с набором реагентов допускаются медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с

микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).

Меры безопасности, позволяющие предохранять оператора

При работе с набором соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными, вредного влияния на организм оператора не оказывают. При работе с набором следует соблюдать обычные меры предосторожности для лабораторий:

- пользоваться средствами индивидуальной защиты органов дыхания, защитными костюмами, перчатками и очками;
- не принимать пищу или курить в лабораторных помещениях;
- после работы с пробами и реактивами следует тщательно вымыть руки водой с мылом.

Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками, при попадании на них компонентов набора промыть большим количеством воды.

При попадании внутрь компонентов набора реагентов за медицинской помощью следует обратиться немедленно.

Необходимые меры по предосторожности в отношении влияния физических факторов

При использовании набора реагентов нет необходимости принимать меры предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий, электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки, источников термического воспламенения.

Необходимые меры предосторожности против специальных рисков

При использовании набора реагентов нет необходимости принимать меры предосторожности против любых специальных рисков при использовании реализации, поскольку в состав изделий не входят вещества человеческого или животного происхождения с учетом их потенциальной инфекционной природы.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, ТРЕБУЕМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ИЗОТЕРМИЧЕСКОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

Рекомендуемое измерительное оборудование

- Амплификатор в режиме реального времени, например, «CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System», «Bio-Rad», США (ПУ № ФСЗ 2008/03399).
- Амплификатор изотермический для детекции РНК вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.51.53-003-06931260-2020 (ПУ РЗН 2020/10090).

Дозирующие устройства

- Набор электронных или механических дозаторов переменного объема: 1-10 мкл, 2-20 мкл, 20-200 мкл.

Другое используемое оборудование

- Микрцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф».
- Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
- Штативы для микропробирок.
- Холодильник с температурой от +2 до +8°C, оснащенный морозильной камерой с температурой от -80 до -20°C.
- Устройство пробоподготовки для выделения нуклеиновых кислот вирусов из биологического материала для проведения изотермической амплификации вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.60.12-001-06931260-2020 (ПУ № РЗН 2020/10089).

Лабораторная посуда

- Емкости для сброса наконечников и микропробирок.
- Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 10, 20, 200 и 1000 мкл (например, «Axygen», США).
- Одноразовые сертифицированные на отсутствие ДНКаз/РНКаз из полипропилена с низкой связываемостью с нуклеиновыми кислотами объемом, плотно закрывающиеся микропробирки объемом, 0,5, 1,5 и 2 мл (например, «Axygen», США).

Материалы и реагенты, не входящие в состав набора

- Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (ПУ № ФСР 2008/03147).
- Набор реагентов для выделения РНК вируса SARS-CoV-2 из биологического материала в вариантах исполнения по ТУ 21.10.60-002-06931260-2020 (ПУ № РЗН 2020/10087).
- Средства индивидуальной защиты, эффективные в отношении вирусов.
- Емкость с дезинфицирующим раствором.

Используемое оборудование должно быть зарегистрировано в РФ как медицинское изделие.

ВНИМАНИЕ! При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые пластиковые микропробирки типа Эппендорф и фильтрующие колонки, входящие в состав Набор реагентов для выделения РНК вируса SARS-CoV-2 из биологического материала в вариантах исполнения по ТУ 21.10.60-002-06931260-2020 (ПУ № РЗН 2020/10087). Допускается использование одноразовых пластиковых наконечников объемами на 0,5 - 10 мкл и 100 - 1000 мкл совместимых с имеющимися в лаборатории электронными или механическими дозаторами переменного объема.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

Получение и обработка биологического материала не являются частью процедуры анализа с использованием Набора и должны осуществляться в соответствии с Временными методическими рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 19 (2019-nCoV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), утвержденными Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации.

Тип исследуемых образцов

Материалом для исследования служат препараты нуклеиновых кислот, выделенные из проб респираторного материала (мазков из ротоглотки и носоглотки).

Процедура получения биологического материала:

Процедура взятия проб должна выполняться в соответствии с правилами противоэпидемиологического режима. При выделении РНК из проб респираторного материала, проведении ПЦР и детекции продукта амплификации следует руководствоваться требованиями СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности)», методическими рекомендациями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», МР 3.1. 0173 – 20 «Организация противоэпидемических мероприятий в период пандемии COVID-19» и Временными методическими рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCov) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), утвержденными Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации.

Выделение РНК из клинических образцов осуществляют при соблюдении требований СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности)», методическими рекомендациями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», МР 3.1. 0173 - 20 «Организация противоэпидемических мероприятий в период пандемии COVID-19» и Временными методическими рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCov) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), утвержденными Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации. При работе необходимо выполнять следующие требования.

Полученную РНК используют для проведения анализа.

В соответствии с инструкцией Комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (ПУ № ФСР 2008/03147), очищенные РНК можно хранить до 24 часов при температуре от 2 до 8°C и до года при температуре не выше минус 16°C.

Ограничения по использованию анализируемого материала:

Для выделения РНК используют набор реагентов «РИБО-преп» или Набор реагентов для выделения РНК вируса SARS-CoV-2 из биологического материала в вариантах исполнения по ТУ 21.10.60-002-06931260-2020 в соответствии с инструкцией по их применению. Для достижения показателей аналитической чувствительности объем аликвоты пробы должен составлять не менее 100 мкл.

Условия транспортирования и возможного хранения анализируемых образцов:

Транспортирование материала в лабораторию для исследований проводят при температуре от 2 до 8°C в течение 1 суток в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности)», методическими рекомендациями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», МР 3.1. 0173 – 20 «Организация противоэпидемических мероприятий в период пандемии COVID-19» и Временными методическими рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCov) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), утвержденными Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации. При работе необходимо выполнять следующие требования.

Исследуемые пробы хранят при температуре от 2 до 8°C не более 2 суток, при температуре от минус 16 до минус 20°C не более одного месяца, не допуская оттаивания до проведения исследования.

При замораживании клинического материала его транспортировка также должна проводиться в замороженном состоянии. Допускается только один цикл заморозки-размораживания образцов.

Меры предосторожности при обращении с материалом исследования.

Учет, хранение, передача, и транспортирование биологического материала, подозрительного на возбудителя, должны осуществляться в соответствии с действующими СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности)», методическими рекомендациями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», МР 3.1. 0173 – 20 « Организация противоэпидемических мероприятий в период пандемии COVID-19» и Временными методическими рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCov) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), утвержденными Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации. При работе необходимо выполнять следующие требования.

Клинический материал утилизируют по классу В, как чрезвычайно эпидемиологически опасные отходы в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности)», методическими рекомендациями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», МР 3.1. 0173 – 20 «Организация противоэпидемических мероприятий в период пандемии COVID-19» и Временными методическими рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCov) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), утвержденными Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации. При работе необходимо выполнять следующие требования.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ АНАЛИЗА И ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Перед применением реагенты необходимо разморозить при комнатной температуре (22-25 °C) в течение 10 – 15 мин, без использования нагревательных приборов (термостатов и т.д.) при соблюдении условий эксплуатации.

Образец – 0,01 мл раствора изолированной РНК, выделенной из биологических образцов. Для выделения РНК из биологических образцов используются коммерческие наборы, зарегистрированные на территории РФ, например Комплект реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» по ТУ 9398-071-01897593-2008 (РУ № ФСР 2008/03147) или Набор реагентов для выделения РНК вируса SARS-CoV-2 из биологического материала в вариантах исполнения по ТУ 21.10.60-002-06931260-2020.

При использовании Набора реагентов для выделения РНК вируса SARS-CoV-2 из биологического материала в вариантах исполнения по ТУ 21.10.60-002-06931260-2020 (РУ №РЗН 2020/10087) выполняйте дальнейшие работы на Устройстве пробоподготовки для выделения нуклеиновых кислот вирусов из биологического материала для проведения изотермической амплификации вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.60.12-001-06931260-2020 (РУ №РЗН 2020/10089).

Реагент Р чувствителен к свету. Необходимо избегать попадания света и хранить в темном месте.

Промаркируйте пробирки для проведения амплификации.

I. Подготовка образца:

- 1) Внесите по 4 мкл «Реагента Р» в каждую тестовую пробирку или каждую лунку 48- или 96-луночного ПЦР-планшета;
- 2) Добавьте по 10 мкл образца в каждую тестовую пробирку или лунку 48- или 96-луночного ПЦР-планшета, содержащую «Реагент Р». После смешивания инкубировать при комнатной температуре в течение 4 минут, но не более 5 минут;
- 3) К полученным 14 мкл смешанного образца (п. 2) добавьте по 6 мкл «Реагента Е» в каждую тестовую пробирку или лунку 48- или 96-луночного ПЦР-планшета, перемешайте пипетированием 5 раз;

II. Подготовка положительного контрольного образца:

- 5) В качестве положительного контроля используют одну из подготовленных пробирок в соответствии с пунктом 1.
- 6) Используйте «Положительный контрольный образец» в качестве положительно контрольного образца для тестовых пробирок или лунок 48- или 96-луночного ПЦР-планшета. Смешайте 10 мкл «Положительного контрольного образца» с 4 мкл «Реагента Р» в пробирке типа «эппендорф», перемешайте пипетированием;
- 7) К полученные 14 мкл смешанного образца (п. 6) добавьте по 6 мкл «Реагента Е» перемешайте пипетированием 5 раз;

III. Подготовка отрицательного контрольного образца:

- 8) В качестве отрицательного контроля используют одну из подготовленных пробирок в соответствии с пунктом 1.
- 9) Используйте «Отрицательный контрольный образец» в качестве отрицательного контрольного образца для тестовых пробирок или лунок 48- или 96-луночного ПЦР-планшета. Смешайте 10 мкл «Отрицательного контрольного образца» с 4 мкл «Реагента Р» в пробирке типа «эппендорф», перемешайте пипетированием 5 раз;
- 10) К полученные 14 мкл смешанного образца (п. 9) добавьте по 6 мкл «Реагента Е» перемешайте пипетированием 5 раз.

РЕКОМЕНДАЦИИ: Для контроля контаминации при выделении РНК используйте в качестве отрицательного контроля элюат, полученный при выделении из SSB без внесения образца.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Расход реагента

Расход реагентов на одно определение указан в таблице ниже:

Наименование	Функция	Необходимый объем на реакцию, мкл
Реагент Е	Ферментативный катализ амплификации целевой НК	6
Реагент Р	Праймеры, необходимые для инициации процесса изотермической амплификации в режиме реального времени и детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени	4

Расход контрольных образцов на каждый анализ указан в таблице ниже:

Наименование	Функция	Необходимый объем на реакцию, мкл
Положительный контрольный образец	Контроль правильности определения целевого анализата – РНК вируса SARS-CoV-2	10
Отрицательный контрольный образец	Контроль правильности определения целевого анализата – РНК вируса SARS-CoV-2	10

Проведение амплификации

Включите Амплификатора изотермического для детекции РНК вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.51.53-003-06931260-2020 (ПУ РЗН 2020/10090) для достижения оптимальной температуры для проведения изотермической амплификации не менее чем на 15 мин до постановки реакции амплификации.

- 1) Заполните тестовые пробирки или 48- или 96-луночный ПЦР-планшет в соответствии с настройками используемого ПЦР-амплификатора, запечатайте пленкой (при необходимости) и загрузите в ПЦР-амплификатор.
- 2) Реакцию амплификации проводят при 65,0-68,0°C в течение 40 мин для Амплификатора изотермического для детекции РНК вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.51.53-003-06931260-2020 (ПУ РЗН 2020/10090). При использовании других амплификаторов, например «CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System», «Bio-Rad», США (ПУ № ФСЗ 2008/03399) при 67,0 °C в течение 40 мин. Канал измерения флуоресценции FAM. Амплификацию и регистрацию результатов проводить в соответствии с эксплуатационной документацией используемого оборудования.

Дальнейшие действия для Амплификатора изотермического для детекции РНК вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.51.53-003-06931260-2020 (ПУ РЗН 2020/10090):

I. Поместите тестовые пробирки в лунку Амплификатора;

II. Выберите необходимый блок для запуска (А/В/С) и запустите реакция амплификации путем нажатия кнопки «Start» в программном обеспечении «Amplifier Client».

После 40 цикла считать результаты сомнительными.

Процедура измерения и оценки результатов анализа

ПЦР в режиме реального времени и регистрацию результатов проводят в соответствии с эксплуатационной документацией используемого прибора.

Интерпретация результатов и достоверности реакции осуществляется по положительному и отрицательному контролю.

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла "Ct" в соответствующей графе в таблице результатов для «CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System»).

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) подъема флуоресцентной кривой и значения, порогового цикла (Ct) в минутах для Амплификатора изотермического для детекции РНК вируса SARS-CoV-2 по ТУ 26.51.53-003-06931260-2020 (ПУ № РЗН 2020/10090).

Результат подлежит учету в случае:

- а) появления пересечения кривых флуоресценции с пороговой линией на канале FAM в пробах с положительными контрольными образцами;
- б) отсутствия положительного сигнала на канале FAM в пробе с отрицательными контрольными образцами.

Результат считать положительным в случае, если кривая накопления флуоресценции для соответствующего образца имеет характерную «сигмовидную» форму и пересекает пороговую линию. Значение Ct должно быть менее 30 (для «CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System»). Значение времени реакции на момент выхода не должно превышать 40 минут. Амплитуда сигнала при этом не имеет значения.

Результат считать отрицательным, если значение Ct на канале FAM отсутствует.

Во всех остальных случаях результаты не подлежат учету.

Отчет о проведении исследования можно выгрузить в виде документа в формате pdf путем нажатия кнопки «Выгрузить в pdf».

Отчетливое появление кривой накопления флуоресценции, которая пересекает пороговую линию после 40 минут реакции может свидетельствовать об ингибировании реакции, в такой ситуации рекомендуется повторить тестирование.

Расчеты и используемые компьютерные программы

Для проведения амплификации, гибридизации и учета результатов используют специализированное программное обеспечение, поставляемое производителями приборов.

Работу с программным обеспечением осуществляют согласно руководству по эксплуатации прибора.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности – 12 месяцев¹*. Набор с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

Транспортирование. Транспортирование изделий осуществляется всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта, при температуре от -20°C до -80°C и относительной влажности от 10 до 90% в условиях, исключающих действие агрессивных сред, прямых солнечных лучей и влаги. Повторное замораживание изделий не допускается.

При транспортировании, осуществлении погрузки и выгрузки изделий должны быть приняты меры, предохраняющие тару от механических повреждений, воздействия атмосферных осадков и агрессивных сред.

Хранение. Хранить в упаковке предприятия-изготовителя необходимо при температуре от -20°C до -80°C, избегая воздействия прямых солнечных лучей и влаги. Повторное замораживание изделий не допускается.

Компоненты набора работоспособны после размораживания в течение 5 дней (при температуре от +2 до +8°C).

Информация по безопасной утилизации

Использованные медицинские изделия, пробирки, наконечники, перчатки, ветошь для обработки поверхностей относят к медицинским отходам класса В и утилизируют согласно требованиям СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

Наборы с истекшим сроком годности, вскрытые, но не использованные наборы, а также наборы с поврежденной упаковкой, утилизируют по классу А в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

Гарантийные обязательства производителя

Предприятие-производитель гарантирует соответствие функциональных характеристик набора реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности (12 месяцев) при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации направлять по адресу: ООО «ЭВОТЭК-МИРАЙ ГЕНОМИКС»

Адрес: 420500, Республика Татарстан, Верхнеуслонский район, г. Иннополис, ул.

Университетская, д. 7, пом.68, Россия.

e-mail: mail@evotech-mg.com

Контактный номер телефона: 8 (800) 707 6401.

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 набора реагентов, рекомендуется направить сообщение на предприятие-изготовитель ООО «ЭВОТЭК-МИРАЙ ГЕНОМИКС» по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию в соответствии с действующим законодательством.

¹ Примечание: * - стабильность набора реагентов подтверждена исследованиями в реальном времени в течение 6 месяцев.

РАСШИФРОВКА СИМВОЛОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ НА МАРКИРОВКЕ НАБОРА

	Изготовитель		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Дата изготовления		Обратитесь к инструкции по применению
	Использовать до		Не использовать при повреждении упаковки
	Номер партии		Температурный диапазон хранения
	Медицинское изделие для диагностики in vitro		Беречь от влаги
	Содержимого достаточно для проведения 24 / 96 тестов		Биологический риск

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.
2. Временные методические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», Версия 16 от 18.08.2022.
3. Временные рекомендации по организации лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции (2019-nCoV) (письмо Роспотребнадзора от 21 января 2020 года N 02/706-2020-27).
4. Инструкция об организации работы по диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-19) (письмо Федеральной службы в защиты прав потребителей и благополучия человека (РОСПОТРЕБНАДЗОР) от 18.02.2020 № 02/4457-2020-27).
5. ПЦР в реальном времени. Ребриков Д.В., Трофимов Д.Ю., Саматов Г.А. // М.: Лаборатория знаний, 2019. – 223 с.

ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

- ГОСТ ISO 14971 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.
- ГОСТ Р ИСО 18113-1 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
- ГОСТ Р ИСО 18113-2 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения.
- ГОСТ Р ИСО 15223-1 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования.
- ГОСТ Р ИСО 23640 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.
- ГОСТ Р 51088 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды.