IVD

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) и вирусов гриппа A, B, субтипа H1pdm09 (пандемического) гриппа A методом ОТ-ПЦР в режиме «реального времени»
«АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)»
по ТУ 21.20.23-085-09286667-2020

«АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)»

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2,
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ 3
1. НАЗНАЧЕНИЕ 4
1.1. Область применения 4
1.2. Показания к применению 4
1.3. Противопоказания к применению 4
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА 4
2.1. Формы выпуска, состав и комплектность 4
2.2. Принцип метода 7
2.3. Техническое обслуживание и ремонт 8
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА 8
3.1. Внутренний контроль качества 8
3.2. Рекомендуемые контрольные материалы 9
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ 10
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ 10
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ 13
6.1. Взятие исследуемого материала 13
6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала 13
6.3. Экстракция НК из исследуемых образцов 13
6.4. Обратная транскрипция, амплификация, детекция продуктов амплификации, анализ и интерпретация результатов 14
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ 15
7.1. Мазки из полости носа 16
7.2. Мазки со слизистой оболочки ротоглотки 16
7.3. Мокрота 16
8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ 17
8.1. Экстракция РНК из исследуемого материала 17
8.2. Подготовка реагентов для ОТ-ПЦР 18
8.3. Внесение проб РНК, проведение ОТ-ПЦР и детекции 20
8.4. Анализ и вычисление результатов 21
8.5. Интерпретация результатов 22
8.6. Возможные ошибки 23
8.7. Диагностическое значение полученного результата 24
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА 24
9.1. Предел обнаружения 24
9.2. Аналитическая специфичность 24
9.3. Прецизионность (воспроизводимость измерения) 25
9.4. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность 26
9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ и ДНК человека 27
10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА 28
10.1. Срок годности 28
10.2. Транспортирование 28
10.3. Хранение 28
11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 29
12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 30

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Ct	–	Cycle threshold (пороговый цикл)
«АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» или набор или набор реагентов	–	Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) и вирусов гриппа А, В, субтипа H1pdm09 (пандемического) гриппа А методом ОТ-ПЦР в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» по ТУ 21.20.23-085-09286667-2020
ВКО	–	внутренний контрольный образец
ДНКаза	–	дезоксирибонуклеаза
дНТФ	–	дезоксирибонуклеотидтрифосфаты
кДНК	–	комплементарная ДНК, получаемая в реакции обратной транскрипции на матрице РНК
РНК	–	рибонуклеиновая кислота
К-	–	отрицательный контроль ОТ-ПЦР
ОКО	–	отрицательный контрольный образец (отрицательный контроль экстракции)
ОТ-ПЦР	–	обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
РНКаза	–	рибонуклеаза
РУ	–	регистрационное удостоверение
УДГ	–	урацил-ДНК-гликозилаза

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) и вирусов гриппа А, В, субтипа H1pdm09 (пандемического) гриппа А методом ОТ-ПЦР в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» по ТУ 21.20.23-085-09286667-2020 предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, гриппов А, В и субтипа H1pdm09 (пандемического) гриппа А в биологическом материале (мазках со слизистой носо- и ротоглотки, мокроте) при диагностике и дифференциальной диагностике острой респираторной инфекции у лиц с клиническими симптомами, при скрининге населения на вирусоносительство, а также для мониторинга лечения заболеваний, вызванных перечисленными вирусами, методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Материалом для проведения ОТ-ПЦР служат пробы РНК, экстрагированные из исследуемого материала с помощью наборов реагентов, рекомендованных в разделе инструкции «Дополнительное оборудование и материалы».

1.1. Область применения

Набор используется в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на инфекции респираторного тракта, при скрининге населения на вирусоносительство, а также для мониторинга лечения заболеваний, вызванных перечисленными выше вирусами.

1.2. Показания к применению

Набор используется в комплексной диагностике возбудителей инфекций верхних и нижних дыхательных путей у всех групп населения, при скрининге населения на вирусоносительство, а также для мониторинга лечения заболеваний, вызванных перечисленными выше вирусами.

1.3. Противопоказания к применению

Нарушение целостности упаковки, истекший срок годности, несоблюдение требований инструкции.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Формы выпуска, состав и комплектность

Набор выпускается в трёх формах (состав форм и комплектность поставки см. в таблице 1 и 2). Все формы выпуска рассчитаны на проведение исследования 100 образцов, включая контроли и предназначены для проведения реакции

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

обратной транскрипции РНК и амплификации участка кДНК с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Форма выпуска 1 включает смесь для проведения ПЦР, раскапанную под прослойку парафина по пробиркам объемом 0,2 мл. Форма предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного и роторного типа.

Форма выпуска 2 включает смесь для проведения ПЦР в пробирке объемом 1,5 мл для дозирования в любые типы пробирок. Форма предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного и роторного типов. Форма может быть использована совместно с автоматическими станциями для приготовления и дозирования реакционных смесей.

Форма выпуска 3 включает смесь для проведения ПЦР, раскапанную под прослойку парафина по стрипованным (12,5 стрипов по 8 пробирок) пробиркам объемом 0,2 мл. Форма предназначена для применения совместно с амплификаторами планшетного типа.

Для проведения полного исследования необходимо использовать наборы реагентов для экстракции РНК, рекомендованные в разделе «Дополнительное оборудование и материалы».

Таблица 1

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Форма выпуска 1			
ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu	0,01	100 пробирок	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость, раскапана под парафин.
Буфер D	1,2	1 пробирка	Буферный раствор, содержащий ионы двухвалентного магния. Прозрачная жидкость.
Taq полимераза	0,12	1 пробирка	Раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
Ревертаза R	0,03	1 пробирка	Буферный раствор с РНК-зависимой ДНК-полимеразой. Прозрачная жидкость.
К-	0,2	1 пробирка	Отрицательный контроль этапа ОТ-ПЦР. Прозрачная жидкость.
ПКО SARS-CoV-2/Flu	0,15	1 пробирка	Положительный контрольный образец с концентрацией последовательностей РНК вирусов гриппа А, В, субтипа H1pdm09 гриппа А и SARS CoV-2, десятикратно превышающей предел обнаружения набора[1]. Прозрачная жидкость.
ВКО R	1,2	1 пробирка	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,2	1 пробирка	Отрицательный контроль этапа экстракции РНК. Прозрачная жидкость.

[1] Относительная концентрация ПКО SARS-CoV-2/Flu указана на этапе ОТ-ПЦР.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Форма выпуска 2			
ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu	1,2	1 пробирка	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость.
Буфер C	0,65	1 пробирка	Буферный раствор, содержащий ионы двухвалентного магния. Прозрачная жидкость.
Taq полимераза	0,12	1 пробирка	Раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
Ревертаза R	0,03	1 пробирка	Буферный раствор с РНК-зависимой ДНК-полимеразой. Прозрачная жидкость.
К-	0,2	1 пробирка	Отрицательный контроль этапа ОТ-ПЦР. Прозрачная жидкость.
ПКО SARS-CoV-2/Flu	0,15	1 пробирка	Положительный контрольный образец с концентрацией последовательностей РНК вирусов гриппа A, B, субтипа H1pdm09 гриппа A и SARS CoV-2, десятикратно превышающей предел обнаружения набора[2]. Прозрачная жидкость.
ВКО R	1,2	1 пробирка	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,2	1 пробирка	Отрицательный контроль этапа экстракции РНК. Прозрачная жидкость.
Форма выпуска 3			
ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu	0,01	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок)[3]	Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ. Прозрачная жидкость, раскапана под парафин белого цвета.
Буфер D	1,2	1 пробирка	Буферный раствор, содержащий ионы двухвалентного магния. Прозрачная жидкость.
Taq полимераза	0,12	1 пробирка	Раствор с термостабильной ДНК-полимеразой Taq и урацил-ДНК-гликозилазой. Прозрачная жидкость.
Ревертаза R	0,03	1 пробирка	Буферный раствор с РНК-зависимой ДНК-полимеразой. Прозрачная жидкость.
К-	0,2	1 пробирка	Отрицательный контроль этапа ОТ-ПЦР. Прозрачная жидкость.
ПКО SARS-CoV-2/Flu	0,15	1 пробирка	Положительный контрольный образец с концентрацией последовательностей РНК вирусов гриппа A, B, субтипа H1pdm09 гриппа A и SARS CoV-2, десятикратно превышающей предел обнаружения набора[2]. Прозрачная жидкость.
ВКО R	1,2	1 пробирка	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,2	1 пробирка	Отрицательный контроль этапа экстракции РНК. Прозрачная жидкость.

[2] Относительная концентрация ПКО SARS-CoV-2/Flu указана на этапе ОТ-ПЦР.
[3] Пробирки с голубым парафином не используются.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 2

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов (форма выпуска 1,2 или 3)	-	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя: http://www.nextbio.ru/reagents/	-
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Комплект вкладышей к набору	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя: http://www.nextbio.ru/passport/	-

2.2. Принцип метода

Принцип тестирования основан на проведении обратной транскрипции с использованием фермента ревертазы и последующей амплификации фрагментов кДНК выявляемых вирусов гриппа и коронавируса SARS-CoV-2, внутреннего контрольного образца (ВКО R) при помощи специфичных праймеров и фермента Taq-полимеразы. Детекция продуктов амплификации происходит путем измерения флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» за счет использования в составе реакционной смеси флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов (зондов). Зонды гибридизуются с комплементарным участком амплифицируемой кДНК-мишени, в результате чего происходит нарастание интенсивности флуоресценции. Это позволяет регистрировать накопление специфического продукта амплификации путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

Набор реагентов содержит систему защиты от контаминации ампликонами за счет применения фермента урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) и трифосфата дезоксиуридина. Фермент УДГ распознает и катализирует разрушение цепей ДНК, содержащих дезоксиуридин, но не ДНК, содержащей дезокситимидин. Дезоксиуридин отсутствует в природной ДНК, но всегда присутствует в ампликонах, поскольку трифосфат дезоксиуридина входит в состав смеси дНТФ в реагентах для амплификации. Дезоксиуридин делает контаминирующие ампликоны восприимчивыми к разрушению ферментом УДГ до начала амплификации ДНК-мишени, и, следовательно, они не могут быть в дальнейшем амплифицированы.

Фермент УДГ термолабилен и инактивируется при нагревании выше 50 °С и поэтому не разрушает ампликоны мишени, нарабатываемые в процессе ПЦР.

На этапе амплификации в одной пробирке одновременно амплифицируются участки кДНК *Influenza virus* A, кДНК коронавируса SARS-CoV-2, кДНК *Influenza virus* B, кДНК *Influenza virus* A H1pdm09 и последовательность ВКО R. Результаты амплификации регистрируются по пяти различным каналам флуоресцентной детекции (см. таблицу 3).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 3

Соответствие кДНК-мишеней и каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	FAM	R6G[4]	ROX	Cy5	Cy5.5
кДНК-мишень	вирус гриппа А (*Influenza virus* A)	коронавирус (SARS-CoV-2)	вирус гриппа В (*Influenza virus* B)	ВКО R	субтип H1pdm09 вируса гриппа А (*Influenza virus* A H1pdm09)
Область амплификации	7 сегмент (matrix gene)	S gene	7 сегмент (matrix gene)	Искусственно синтезированная последовательность	4 сегмент (hemagglutinin gene)

2.3. Техническое обслуживание и ремонт

Набор не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

3.1. Внутренний контроль качества

3.1.1. Отрицательный и положительный контроли исследования

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых образцов должна включать отрицательный контроль (ОКО), а каждая индивидуальная постановка ОТ-ПЦР отрицательный контроль (К-) и положительный контроль (ПК). Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в разделе «Интерпретация результатов».

В качестве отрицательного контроля экстракции используется реагент ОКО, входящий в состав набора. Отрицательный контроль тестируется, начиная с этапа экстракции, и позволяет контролировать возможную контаминацию другими образцами или ампликонами. В пробирке с отрицательным контролем не должна детектироваться РНК выявляемых вирусов. В случае несоответствия результата для контроля заданным критериям валидности, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех исследуемых образцов и контролей, начиная с этапа экстракции.

В качестве положительного и отрицательного контроля этапа ОТ-ПЦР используются положительный контрольный образец (ПКО SARS-CoV-2/Flu) и реагент К-, входящие в состав набора. В случае несоответствия результатов для положительного контроля заданным критериям валидности, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, требуется повторить исследование всех исследуемых образцов и контролей, начиная с этапа ПЦР. В случае несоответствия результата для отрицательного контроля заданным

[4] Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow и VIC.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

критериям валидности, результаты для всех образцов в постановке считаются недостоверными, необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование всех исследуемых образцов и контролей, начиная с этапа ОТ-ПЦР.

3.1.2. Контроль ингибирования

Для контроля всех этапов исследования, эффективности экстракции РНК, обратной транскрипции и оценки влияния ингибиторов ПЦР предусмотрено использование экзогенного ВКО, содержащего РНК, который добавляется в каждый исследуемый и контрольный образец на этапе экстракции РНК. Результаты исследования ВКО должны соответствовать заданным критериям валидности для положительных и отрицательных исследуемых образцов, указанным в разделе «Интерпретация результатов». Если в исследуемых образцах не обнаружена РНК анализируемых вирусов и РНК ВКО, то результаты исследования данных образцов считаются недостоверными, требуется повторить их анализ, начиная с этапа экстракции. В исследуемых образцах, в которых обнаружена РНК выявляемых вирусов, допускается наличие или отсутствие РНК ВКО.

3.1.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

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

3.2. Рекомендуемые контрольные материалы

В качестве контрольных материалов для проверки заявленных функциональных характеристик набора могут быть использованы зарегистрированные на территории Российской Федерации панели контрольных образцов, предназначенные для проведения внутреннего и внешнего контролей качества лабораторных исследований по обнаружению НК выявляемых вирусов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Набор применяется только для диагностики in vitro.

4.2. Набор предназначен для работы только с исследуемым материалом, указанным в разделе «Назначение». Исследование других видов биологического материала может привести к получению недостоверных результатов.

4.3. Получение достоверных результатов обеспечивается выполнением требований, предъявляемых к взятию, транспортированию, хранению и подготовке образцов исследуемого материала (см. раздел «Исследуемый материал»).

4.4. С помощью набора возможно ПЦР-исследование только проб РНК, экстрагированных из исследуемого материала совместно с внутренним контрольным образцом – ВКО R, входящим в состав набора. Без использования ВКО R невозможно провести оценку валидности постановки.

4.5. Набор предназначен для профессионального применения. Набор должен использоваться только квалифицированным, обученным (в области клинической лабораторной диагностики) персоналом (врачи клинической лаборатории и медицинские лабораторные техники, обученные молекулярным биологическим методикам).

4.6. При работе с набором следует использовать только амплификаторы с системой детекции флуоресцентного сигнала, характеристики которых удовлетворяют требования, указанные в разделе «Дополнительное оборудование и материалы».

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Перед началом работ следует ознакомиться с Методическими указаниями М 1.3.1877-04 «Порядок сбора, упаковки, хранения, транспортирования и проведения лабораторного анализа биологического материала от больных (и умерших) пациентов с подозрением на тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС)», утвержденными Роспотребнадзором.

5.2. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и 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». В

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

соответствии с п. 2.1.6 СП 1.3.3118-13 диагностика возбудителей инфекционных болезней II группы патогенности молекулярно-генетическими методами (без накопления возбудителя) может проводиться в лабораториях, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами III группы патогенности в соответствии с требованиями санитарных правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (с изменениями на 29 июня 2011 года). Материал для исследований подлежит предварительной обработке в соответствии методическими указаниями МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

5.3. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор строго по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов анализа.

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.3118-13.

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.3118-13.

- Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку[5], биологический материал[6], включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

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

[5] Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

[6] Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Набор предназначен для однократного применения для проведения ПЦР-исследования указанного количества образцов (см. раздел «Состав и комплектность»).

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с требованиями СП 1.3.3118-13).

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

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

- Не смешивать реагенты разных серий.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

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

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

- При контакте немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь, рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

5.4. При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор безопасен. Реагенты набора содержат натрия азид в концентрации не более 0,1 % и соответственно не классифицируются как опасные и не требуют соблюдения специальных мер предосторожности.

5.5. Отрицательные результаты не исключают возможность инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2 или выявляемыми вирусами гриппа и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациентов.

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5.7. Набор реагентов не выявляет наличие коронавируса SARS-CoV-2 и вирусов гриппа, если их концентрация ниже заявленного предела обнаружения ($1x10^3$ копий/мл).

5.8. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие исследуемого материала

6.1.1. Транспортная среда для взятия, транспортировки и хранения мазков со слизистой носо- и ротоглотки, содержащая изотонический водно-солевой раствор с консервантом.

6.1.2. Зонд-тампон для взятия биологического материала с поверхности слизистых оболочек (полости носа, ротоглотки) одноразовый стерильный из полипропилена/полистирола с вискозой или хлопком.

6.1.3. Емкость для взятия, транспортировки и хранения мокроты (объемом до 50 мл), однократного применения, стерильная, с завинчивающейся или плотно защелкивающейся крышкой, изготовленная из полипропилена.

6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала

6.2.1. Реагент для предобработки мокроты с целью проведения экстракции НК.

6.2.2. Дополнительные материалы и оборудование, необходимые для предобработки мокроты, – согласно инструкции к используемому реагенту.

6.3. Экстракция НК из исследуемых образцов

6.3.1. Набор реагентов «АмплиПрайм РИБО-преп» (РУ № ФСР 2012/14017), или «МагноПрайм ЮНИ» (РУ № РЗН 2019/8955), или «МагноПрайм ФАСТ-Р», либо любой другой рекомендованный производителем набор, зарегистрированный в РФ и соответствующий следующим требованиям:

- набор позволяет выделять РНК из биологического материала (мазки со слизистой носо- и ротоглотки, мокрота) для последующего исследования методом ОТ-ПЦР;
- набор не относится к экспресс-методам экстракции РНК;
- набор позволяет исследовать образцы объемом не менее 100 мкл;
- набор позволяет проводить элюцию очищенной РНК в объеме не менее 50 мкл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6.3.2. Дополнительные материалы и оборудование, необходимые для экстракции РНК, – согласно инструкции к набору реагентов для экстракции РНК.

6.4. Обратная транскрипция, амплификация, детекция продуктов амплификации, анализ и интерпретация результатов

6.4.1. Одноразовые полипропиленовые пробирки, свободные от РНКаз/ДНКаз, следующих видов:

- завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл – для приготовления реакционной смеси;

- тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с выпуклой или плоской оптически прозрачной крышкой или пробирки объемом 0,2 мл в стрипах по 8 шт. с прозрачными крышками – для проведения ПЦР при использовании прибора планшетного типа (при работе с формой выпуска 2);

- тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой или пробирки для ПЦР объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками – для проведения ПЦР при использовании прибора роторного типа (при работе с формой выпуска 2).

6.4.2. Одноразовые наконечники, свободные от РНКаз/ДНКаз, для дозаторов переменного объема с фильтром от 100 до 1000 мкл.

6.4.3. Штативы для пробирок объемом 0,2 мл или 0,1 мл (в соответствии с используемыми пробирками для ПЦР).

6.4.4. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс).

6.4.5. Центрифуга-вортекс.

6.4.6. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.4.7. Станция автоматическая с модулем для приготовления и раскапки реакционных смесей и комплект расходных материалов к ней согласно инструкции Производителя.

6.4.8. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» роторного типа (например, Rotor-Gene Q), либо планшетного типа (например, QuantStudio 5 или C1000 Touch в комплекте с модулем CFX96), зарегистрированные в РФ и соответствующие следующим требованиям:

- наличие независимых каналов флуоресцентной детекции для флуорофоров FAM, R6G, ROX, Cy5, Cy5.5 с характеристиками, указанными в таблице 4.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 4

Требуемые характеристики каналов флуоресцентной детекции

Канал для флуорофора	Длины волн, нм			
	Возбуждения		Детекции	
	Минимум	Максимум	Минимум	Максимум
FAM	450	470	510	530
R6G	515	532	545	580
ROX	565	585	605	650
Cy5	620	640	660	690
Cy5.5	660	690	705	750

- для приборов планшетного типа наличие подогреваемой крышки с температурой более 100°С;
- точность поддержания температуры ≤ ±0,4°С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/сек;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/сек.

6.4.9. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.

6.4.10. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.4.11. Емкость для сброса наконечников.

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Для исследования рекомендуется брать не менее двух типов биологического материала:

- мазки со слизистой носо- и ротоглотки (допускается объединение в одной пробирке),
- мокрота.

ВНИМАНИЕ! Мазки со слизистой носоглотки и ротоглотки рекомендуется совмещать в одной пробирке и исследовать как один образец. Для этого берут мазки разными зондами сначала со слизистой нижнего носового хода, а затем из ротоглотки, при этом рабочие концы зондов после взятия мазков помещаются в одну пробирку с 0,5 мл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков и исследуются как один образец. Если зонд не остается в пробирке со средой, то необходимо тщательно смыть материал, интенсивно прокручивая зонд в среде не менее 10 секунд.

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с нижеперечисленными требованиями,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

несоблюдение которых может привести к получению некорректных результатов исследования.

7.1. Мазки из полости носа

Взятие материала провести из полости носа с помощью одноразового стерильного зонда-тампона из полипропилена/полистирола с вискозой или хлопком в пробирку с транспортной средой в соответствии с инструкцией по применению зонда.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, содержащую изотонический водно-солевой раствор с консервантом, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

7.2. Мазки со слизистой оболочки ротоглотки

Взятие материала провести с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки с помощью одноразового стерильного зонда-тампона из полипропилена/полистирола с вискозой или хлопком в пробирку с транспортной средой в соответствии с инструкцией по применению зонда.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, содержащую изотонический водно-солевой раствор с консервантом, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.3. Мокрота

7.3.1. Взятие материала

Отобрать мокроту в количестве не менее 1,0 мл в одноразовый стерильный контейнер с широким горлом и завинчивающимися крышками объемом не менее 50 мл.

Условия хранения и перевозки материала:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.3.2. Предварительная обработка

Необходимо провести разжижение мокроты, используя реагент для предобработки мокроты с целью проведения экстракции нуклеиновых кислот, в соответствии с инструкцией по использованию данного реагента.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Условия хранения предварительно обработанных проб мокроты аналогичны условиям хранения материала до предобработки.

8. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование должно проводиться при нормальных показателях микроклимата клинико-диагностической лаборатории[7]:

- температура окружающего воздуха от 20 до 28 °С;
- относительная влажность 40 – 75 %.

8.1. Экстракция РНК из исследуемого материала

Для экстракции РНК использовать наборы реагентов, рекомендованные Производителем в разделе «Дополнительное оборудование и материалы». Порядок работы с наборами для экстракции РНК смотрите в инструкции по их применению.

ВНИМАНИЕ! При проведении исследования недопустимо использование экспресс-методов экстракции НК.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой отрицательного контроля (ОКО) в одном повторе.

ВНИМАНИЕ! При проведении экстракции РНК во все образцы, включая отрицательный контроль (ОКО), следует вносить внутренний контрольный образец (ВКО R).

8.1.1. Ручная методика экстракции.

Экстракцию РНК проводить с использованием набора реагентов «АмплиПрайм РИБО-преп», «МагноПрайм ФАСТ-Р» или «МагноПрайм ЮНИ» в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора. В процессе экстракции РНК использовать следующие объемы реагентов, контрольных и исследуемых образцов:

- объем исследуемого образца[8] – **100 мкл** в пробирки для исследуемых образцов;
- объем реагента ВКО R – **10 мкл** в каждую пробирку с исследуемыми образцами и в пробирку с отрицательным контрольным образцом (ОКО);
- объем реагента ОКО – **100 мкл** в пробирку для ОКО;
- объем реагента, используемого для элюции РНК, – **50 мкл**[9] (при использовании наборов «АмплиПрайм РИБО-преп» или «МагноПрайм ЮНИ») или **100 мкл** (при использовании набора «МагноПрайм ФАСТ-Р»).

---

[7] Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

[8] Для образцов мокроты требуется предварительная подготовка согласно разделу «Исследуемый материал».

[9] При необходимости допускается увеличение объема элюции до 90 мкл.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.1.2. Автоматическая методика экстракции.

Экстракцию РНК проводить с использованием набора реагентов «МагноПрайм ЮНИ» или «МагноПрайм ФАСТ-Р» в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора.

В процессе экстракции РНК использовать следующие объемы реагентов, контрольных и исследуемых образцов:

- объем исследуемого образца[8] – **100 мкл** в пробирки для исследуемых образцов;
- объем реагента ВКО R – **10 мкл** в каждую пробирку с исследуемыми образцами и в пробирку с отрицательным контрольным образцом (ОКО);
- объем реагента ОКО – **100 мкл** в пробирку для ОКО;
- объем реагента, используемого для элюции РНК, – **100 мкл**.

ВНИМАНИЕ! Допускается предварительное смешивание исследуемых образцов и отрицательного контрольного образца (ОКО) с Буфером L за пределами автоматической станции. Приготовление смеси МГС, Реагента А и ВКО R в соответствии с инструкцией к набору реагентов для проведения экстракции и ее добавление к исследуемым и контрольным образцам в Буфере L осуществляется на борту автоматической станции.

8.2. Подготовка реагентов для ОТ-ПЦР

8.2.1. При использовании формы выпуска 1 и 3.

ВНИМАНИЕ! Необходимо минимизировать время нахождения Taq полимеразы и Ревертазы R при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ОТ-ПЦР.

8.2.1.1. Рассчитать объемы реагентов, требующиеся для приготовления реакционной смеси (см. таблицу 5). Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас не менее чем на одну реакцию.

Таблица 5

Расчет объемов компонентов реакционной смеси

Реагент	Объем, мкл	Обозначения
Буфер D	**10,0***(N+1)	**N** – количество образцов для проведения ОТ-ПЦР, включая контроли
Taq полимераза	**1,0***(N+1)	
Ревертаза R	**0,25***(N+1)	

8.2.1.2. Разморозить Буфер D и ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu. Перемешать содержимое пробирок с Буфером D, Taq полимеразой и Ревертазой R, осадить капли на вортексе.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.2.1.3. Приготовить реакционную смесь в отдельной пробирке, добавив компоненты в объемах, рассчитанных в п. 8.2.1.1. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

8.2.1.4. Отобрать необходимое количество пробирок или стрипов с **ПЦР-смесью SARS-CoV-2/Flu** для проведения ОТ-ПЦР РНК исследуемых и контрольных образцов.

8.2.1.5. Убедиться, что парафин полностью покрывает раствор на дне пробирок. В противном случае, не использовать данные пробирки.

8.2.1.6. На поверхность парафина внести по **10 мкл** приготовленной **реакционной смеси**, при этом она не должна проваливаться под прослойку парафина и смешиваться с ПЦР-смесью.

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

8.2.2. При использовании формы выпуска 2.

ВНИМАНИЕ! Необходимо минимизировать время нахождения Taq полимеразы и Ревертазы R при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! В случае приготовления реакционной смеси с помощью автоматической станции следуйте указаниям инструкции по ее использованию.

8.2.2.1. Рассчитать объемы реагентов, требующиеся для приготовления реакционной смеси (см. таблицу 6). Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов, плюс запас не менее чем на одну реакцию.

Таблица 6

Расчет объемов компонентов реакционной смеси

Реагент	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu	**10,0***(N+1)	**N** – количество образцов для проведения ОТ-ПЦР, включая контроли
Буфер С	**5,0***(N+1)	
Taq полимераза	**1,0***(N+1)	
Ревертаза R	**0,25***(N+1)	

8.2.2.2. Разморозить Буфер С и ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu.

8.2.2.3. Перемешать содержимое пробирок с реагентами (см. таблицу 6), осадить капли на вортексе.

8.2.2.4. Приготовить реакционную смесь в отдельной пробирке, добавив компоненты в объемах, рассчитанных в п. 8.2.2.1. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.2.2.5. Отобрать необходимое количество пробирок для проведения ОТ-ПЦР РНК исследуемых и контрольных образцов. Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».

8.2.2.6. Внести в пробирки по **15 мкл** приготовленной **реакционной смеси.**

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

8.3. Внесение проб РНК, проведение ОТ-ПЦР и детекции

ВНИМАНИЕ! При добавлении проб РНК, экстрагированных с помощью наборов реагентов для проведения экстракции методом сорбции на силикагеле или магнитной сепарации, необходимо избегать попадания сорбента в реакционную смесь.

8.3.1. Внести в подготовленные пробирки с реакционной смесью по 10 мкл проб РНК, полученных в результате экстракции.

8.3.2. Внести контрольные образцы:

а) положительный контроль ОТ-ПЦР – в одну пробирку для образца **ПКО** внести **10 мкл ПКО SARS-CoV-2/Flu**.

б) отрицательный контроль экстракции – в одну пробирку для образца **ОКО** внести **10 мкл пробы, экстрагированной из ОКО**.

в) отрицательный контроль ПЦР – в одну пробирку для образца **К-** внести **10 мкл реагента К-**.

ВНИМАНИЕ! Провести ОТ-ПЦР сразу после внесения РНК-проб и контролей в реакционную смесь.

8.3.3. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» для выполнения единой программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала (см. таблицу 7).

ВНИМАНИЕ! Программирование и запуск амплификатора проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для программирования амплификаторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

Таблица 7

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, R6G[10], ROX, Cy5, Cy5.5	

[10] Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow и VIC.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.3.4. Установить пробирки или стрипы в ячейки реакционного модуля прибора.

Примечание - Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

8.3.5. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.

8.3.6. Прибор проводит регистрацию флуоресцентного сигнала автоматически в режиме «реального времени».

8.4. Анализ и вычисление результатов

Анализ и обработку результатов можно проводить:

- в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия, РУ № РЗН 2019/8870) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/;

- в ручном режиме с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», согласно инструкции по его применению и инструкции к набору.

ВНИМАНИЕ! Обработку данных (флуоресцентных кривых), полученных в программном обеспечении прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для обработки данных указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

Обработка и расчет результатов происходит на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы кДНК значения порогового цикла (Ct) в соответствующей графе таблицы результатов. Параметры обработки флуоресцентных кривых зависят от используемой модели амплификатора (см. вкладыш к набору и инструкцию по применению амплификатора).

Кривые накопления флуоресцентного сигнала анализируются по пяти каналам детекции (см. таблицу 8).

Таблица 8

Детекция флуоресцентного сигнала

Канал для флуорофора	FAM	R6G[11]	ROX	Cy5	Cy5.5
Продукт амплификации	кДНК *Influenza virus* A	кДНК SARS-CoV-2	кДНК *Influenza virus* B	ВКО R	кДНК *Influenza virus* A H1pdm09

[11] Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow и VIC.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.5. Интерпретация результатов

Интерпретацию результатов проводят в двух вариантах:

- вручную в соответствии с таблицей 9 и вкладышем, прилагаемым к набору. Результат исследования считают достоверным, если получены правильные результаты для контролей в соответствии с таблицей 10;

- в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия, РУ № РЗН 2019/8870) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/. Алгоритм интерпретации результатов для исследуемых образцов и критерии валидности результатов, полученных для контролей, используемый в программном обеспечении, представлен в таблицах 9 и 10 соответственно.

Таблица 9

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат	Интерпретация
Значение Ct по каналу для флуорофора **Cy5 отсутствует** или определено **выше граничного**, при этом значения Ct по каналам для флуорофоров **FAM, R6G, ROX, Cy5.5 отсутствуют.**	**Невалидный!** Сбой ВКО! Требуется повторить анализ
Значения Ct по каналам для флуорофоров **FAM, R6G, ROX, Cy5.5 отсутствуют** или определены **выше граничных**, при этом значение Ct по каналу для флуорофора **Cy5 определено не выше граничного.**	РНК выявляемых возбудителей **не обнаружена**
Значение Ct по каналу для флуорофора **FAM** и/или **R6G** и/или **ROX** определено **не выше граничного**. При этом кривая флуоресценции данной пробы по данному каналу пересекает пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции.	РНК *Influenza virus* A и/или РНК SARS-CoV-2 и/или РНК *Influenza virus* B **обнаружена**
Значения Ct по каналу для флуорофоров **FAM**[12] и **Cy5.5** определены **не выше граничных**. При этом кривая флуоресценции данной пробы по данным каналам пересекает пороговую линию на участке характерного экспоненциального подъема флуоресценции.	РНК *Influenza virus* A H1pdm09 **обнаружена**

Примечание - Граничные значения Ct указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

[12] Возможно отсутствие или превышение граничного Ct по каналу FAM при наличии положительного сигнала по каналу Cy5.5.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 10

Результаты для контролей

Контроль	Результаты амплификации по каналу для флуорофора				
	FAM	R6G	ROX	Cy5	Cy5.5
ОКО (отрицательный контроль экстракции)	Значение Ct отсутствует	Значение Ct отсутствует	Значение Ct отсутствует	Значение Ct определено не выше граничного	Значение Ct отсутствует
ПКО SARS-CoV-2/Flu (положительный контроль ОТ-ПЦР)	Значение Ct определено ниже граничного	Значение Ct определено ниже граничного	Значение Ct определено ниже граничного	Значение Ct отсутствует	Значение Ct определено ниже граничного
К- (отрицательный контроль ОТ-ПЦР)	Значение Ct отсутствует	Значение Ct отсутствует	Значение Ct отсутствует	Значение Ct отсутствует	Значение Ct отсутствует

8.6. Возможные ошибки

8.6.1. Для отрицательного контроля ОТ-ПЦР (К–) определено значение порогового цикла (Ct) по каналам для флуорофоров FAM, R6G, ROX, Cy5, Cy5.5. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование всех образцов.

8.6.2. Для отрицательного контроля экстракции (ОКО) определено значение порогового цикла (Ct) по каналам для флуорофоров FAM, R6G, ROX, Cy5.5. Вероятна контаминация лаборатории продуктами амплификации или контаминация реагентов, исследуемых образцов на каком-либо этапе ПЦР-исследования. Необходимо предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить ПЦР-исследование для всех образцов, начиная с этапа экстракции РНК.

8.6.3. Для исследуемого образца определено значение порогового цикла, при этом на графике флуоресценции отсутствует участок характерного экспоненциального подъема (график представляет собой приблизительно прямую линию). Необходимо проверить правильность выбранного уровня пороговой линии или параметров расчета базовой линии. Если результат получен при правильном уровне пороговой линии (базовой линии), требуется повторно провести амплификацию и детекцию для этого образца.

8.6.4. При получении невалидного результата для образца требуется повторно провести исследование данного образца, начиная с этапа экстракции нуклеиновых кислот. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторно провести взятие, предварительную подготовку и исследование образца.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

8.7. Диагностическое значение полученного результата

ПЦР-исследование является одним из методов всестороннего обследования пациента, на основании которых лечащий врач устанавливает диагноз и выбирает мероприятия по лечению пациента. Результаты, полученные при использовании набора, следует рассматривать и интерпретировать в сочетании с данными других клинических и лабораторных исследований.

9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

9.1. Предел обнаружения[13]

Предел обнаружения набора «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» был определен с использованием пробит-анализа с 95%-ой доверительной вероятностью (см. таблицу 11). Значение характеристики достигается при соблюдении правил, указанных в разделе «Исследуемый материал».

Таблица 11

кДНК-мишень	Предел обнаружения, копий/мл	95%-ый доверительный интервал, копий/мл
Influenza virus A	$1x10^3$	$9,99x10^2$ – $1,46x10^3$
Influenza virus B	$1x10^3$	$7,67x10^2$ – $1,04x10^3$
Influenza virus A H1pdm09	$1x10^3$	$6,67x10^2$ – $8,73x10^2$
SARS-CoV-2	$1x10^3$	$9,08x10^2$ – $1,85x10^3$

9.2. Аналитическая специфичность

Набор реагентов «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» обнаруживает фрагменты РНК вирусов гриппа А, В, субтипа H1pdm09 (пандемического) гриппа А и SARS-CoV-2.

Аналитическая специфичность набора оценивалась тестированием НК микроорганизмов и вирусов (см. таблицу 12) и геномной ДНК человека. НК микроорганизмов и вирусов в концентрации не менее $1x10^6$ копий/мл и геномную ДНК человека в концентрации 1 мкг/мл вносили в образцы биологического материала, не содержащие выявляемые набором мишени.

Дополнительно подтверждалось отсутствие перекрестных реакций между выявляемыми вирусами при тестировании РНК вирусов в концентрации не менее $1x10^7$ копий/мл.

[13] Предел обнаружения – 95%-ое положительное пороговое значение концентрации (концентрация кДНК выявляемых возбудителей, при которой 95% тестов дают положительный результат).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 12

Микроорганизмы и вирусы, используемые для оценки аналитической специфичности

Микроорганизмы и вирусы	
Bordetella parapertussis	*Mycoplasma pneumoniae*
Bordetella pertussis	*Betacoronavirus* 1 OC43
Bordetella bronchiseptica	*Quantitative Synthetic Human coronavirus* NL63 RNA
Haemophilus influenza	*Respiratory syncytial virus*
Klebsiella pneumoniae	*Human rhinovirus*
Staphylococcus aureus	*Human parainfluenza virus*
Streptococcus pneumoniae	*Human adenovirus*
Legionella pneumophila	*Human metapneumovirus*
Pseudomonas aeruginosa	*Human coronavirus* 229E

При тестировании образцов НК вышеперечисленных микроорганизмов, вирусов и геномной ДНК человека, а также РНК выявляемых вирусов в высоких концентрациях с использованием набора перекрестных реакций выявлено не было.

9.3. Прецизионность (воспроизводимость измерения)

Воспроизводимость измерений оценивали путем тестирования модельных образцов, содержащих РНК выявляемых вирусов в двух концентрациях (см. таблицу 13).

Модельные образцы были приготовлены разведением стандартных образцов предприятия, содержащих РНК выявляемых вирусов, на ТЕ-буфере с poly(A). Каждый образец проходил все этапы исследования (экстракцию РНК, ОТ-ПЦР и детекцию результатов).

Таблица 13

Воспроизводимость измерения

кДНК-мишень	**Концентрация, копий/мл**	**Общее число повторов**	**Среднее значение Ct**	**Стандартное отклонение (SD)**	**Коэффициент вариации (CVv), %**
Внутрисерийная (результаты на амплификаторе роторного типа)					
Influenza virus A	$1x10^3$	40	36,51	0,32	0,86
	$1x10^4$		33,52	0,29	0,87
SARS-CoV-2	$1x10^3$		33,51	0,29	0,87
	$1x10^4$		29,47	0,30	1,03
Influenza virus B	$1x10^3$		34,50	0,30	0,86
	$1x10^4$		31,53	0,30	0,94
Influenza virus A H1pdm09	$1x10^3$		31,55	0,31	0,99
	$1x10^4$		28,48	0,31	1,09

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

кДНК-мишень	Концентрация, копий/мл	Общее число повторов	Среднее значение Ct	Стандартное отклонение (SD)	Коэффициент вариации (CVv), %
Межсерийная (результаты на амплификаторе роторного типа)					
Influenza virus A	$1x10^3$	40	36,48	0,28	0,77
	$1x10^4$		33,54	0,29	0,86
SARS-CoV-2	$1x10^3$		33,49	0,31	0,91
	$1x10^4$		29,50	0,30	1,04
Influenza virus B	$1x10^3$		34,56	0,27	0,80
	$1x10^4$		31,51	0,30	0,95
Influenza virus A H1pdm09	$1x10^3$		31,49	0,29	0,93
	$1x10^4$		28,51	0,29	1,02
Внутрисерийная (результаты на амплификаторе планшетного типа)					
Influenza virus A	$1x10^3$	80	36,99	0,30	0,82
	$1x10^4$		33,49	0,31	0,91
SARS-CoV-2	$1x10^3$		37,52	0,30	0,79
	$1x10^4$		34,53	0,30	0,88
Influenza virus B	$1x10^3$		36,05	0,29	0,81
	$1x10^4$		32,55	0,30	0,93
Influenza virus A H1pdm09	$1x10^3$		35,52	0.26	0,77
	$1x10^4$		32,50	0,27	0,80
Межсерийная (результаты на амплификаторе планшетного типа)					
Influenza virus A	$1x10^3$	80	37,00	0,27	0,73
	$1x10^4$		33,50	0,28	0,85
SARS-CoV-2	$1x10^3$		34,52	0,31	0,81
	$1x10^4$		37,51	0,31	0,90
Influenza virus B	$1x10^3$		32,51	0,29	0,79
	$1x10^4$		36,06	0,31	0,96
Influenza virus A H1pdm09	$1x10^3$		32,54	0,29	0,82
	$1x10^4$		35,51	0,29	0,88

9.4. Диагностическая специфичность и диагностическая чувствительность

Для определения диагностических характеристик набора «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» были использованы 500 образцов мазков со слизистой носо- и ротоглотки и 500 образцов мокроты.

В качестве наборов сравнения, с помощью которых устанавливали наличие или отсутствие РНК выявляемых вирусов, использовались следующие наборы реагентов:

– Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) методом полимеразной цепной реакции «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 DUO» (РУ № РЗН 2020/10837);

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

– Набор реагентов для выявления РНК вирусов гриппа А (*Influenza virus* А) и гриппа В (*Influenza virus* В) в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Influenza virus* A/B-FL» (РУ № ФСР 2009/05010);

– Набор реагентов для выявления РНК вируса гриппа A/H1N1(sw2009) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® *Influenza virus* A/H1-swine-FL» (РУ № ФСР 2009/05143).

Значения диагностической специфичности и диагностической чувствительности набора «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» с доверительной вероятностью 95 %, рассчитанные, исходя из полученных данных, приведены в таблице 14.

Таблица 14

Диагностические характеристики набора

Тип образцов	Возбудитель	Диагностическая специфичность	Диагностическая чувствительность
мазки со слизистой носо- и ротоглотки	*Influenza virus* A	100 % (97,0 % – 100 %)	100 % (99,3 % – 100 %)
	Influenza virus B	100 % (97,0 % – 100 %)	100 % (99,3 % – 100 %)
	Influenza virus A H1pdm09	100 % (97,0 % – 100 %)	100 % (99,3 % – 100 %)
	SARS-CoV-2	100 % (97,0 % – 100 %)	100 % (99,3 % – 100 %)
мокрота	*Influenza virus* A	100 % (97,0 % – 100 %)	100 % (99,3 % – 100 %)
	Influenza virus B	100 % (97,0 % – 100 %)	100 % (99,3 % – 100 %)
	Influenza virus A H1pdm09	100 % (97,0 % – 100 %)	100 % (99,3 % – 100 %)
	SARS-CoV-2	100 % (97,0 % – 100 %)	100 % (99,3 % – 100 %)

9.5. Оценка влияния интерферирующих веществ и ДНК человека

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность ОТ-ПЦР при использовании набора «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» отсутствует. Не выявлено ингибирование реакции амплификации при добавлении к образцам мазков из носо- и ротоглотки и образцам мокроты на этапе экстракции интерферирующих веществ, представленных в таблице 15, в максимально возможной концентрации для данных видов биоматериала.

Таблица 15

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
мазки из носо- и ротоглотки, мокрота	гемоглобин	0,2 ммоль
	муцин	0,23 мг

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
	препарат «Мирамистин»	0,001 %
	препарат «Хлоргексидин (Дезин (Хлоргексидин 20%))»	0,1 %
	ДНК человека	$3{,}0 \times 10^6$ копий/мл

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев[14] от даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

10.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах не более 5 суток. Набор реагентов при получении разукомплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

10.3. Хранение

Набор реагентов необходимо разукомплектовать. Контрольные образцы (ПКО SARS-CoV-2/Flu, ВКО R и ОКО) хранить при температуре от 2 до 8 °С. Остальные реагенты хранить в морозильной камере при температуре от -24 до -16 °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора. Допустимо размораживать и замораживать реагенты не более 5 раз. Необходимо минимизировать время нахождения Taq полимеразы и Ревертазы R при комнатной температуре.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Реакционная смесь, приготовленная из реагентов, хранению не подлежит.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

[14] Срок годности не подтвержден исследованиями в реальном времени.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» направлять в адрес производителя ООО «НекстБио»: 111394, г. Москва, ул. Полимерная, 8 стр. 2, тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в Российской Федерации – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Не допускать попадания солнечного света
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «НекстБио»
_____ О. О. Лавинюков
03.11.2020

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ РНК КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2 ТЯЖЕЛОГО ОСТРОГО РЕСПИРАТОРНОГО СИНДРОМА (COVID-19) И ВИРУСОВ ГРИППА А, В, СУБТИПА H1PDM09 (ПАНДЕМИЧЕСКОГО) ГРИППА А МЕТОДОМ ОТ-ПЦР В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» «АМПЛИПРАЙМ® SARS-COV-2 / FLU (A/B/H1PDM09)» ПО ТУ 21.20.23-085-09286667-2020

ФОРМА ВЫПУСКА 1
ФОРМА ВЫПУСКА 2
ФОРМА ВЫПУСКА 3

Краткое руководство по применению набора версии 02.11.20

Лист утверждения

СОГЛАСОВАНО

Руководитель отдела разработки производственной документации ООО «НекстБио»
_____ М. Н. Гарас
02.11.20

Старший специалист по документации отдела разработки производственной документации ООО «НекстБио»
_____ Ю. А. Дарикова
02.11.20

Директор научно-производственного комплекса ООО «НекстБио»
_____ М. Е. Сенина
2.11.2020

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

IVD

АмплиПрайм

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) и вирусов гриппа А, В, субтипа H1pdm09 (пандемического) гриппа А методом ОТ-ПЦР в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» по ТУ 21.20.23-085-09286667-2020

«АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)»

Форма выпуска 1

REF X

ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: http://www.nextbio.ru/reagents/ (для ее получения необходим свободный бесперебойный доступ в интернет).

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ✓ мазки со слизистой носо- и ротоглотки;
- ✓ мокрота.

СОСТАВ

Компонент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu	Прозрачная жидкость	0,01	100 пробирок
Буфер D	Прозрачная жидкость	1,2	1 пробирка
Taq полимераза	Прозрачная жидкость	0,12	1 пробирка
Ревертаза R	Прозрачная жидкость	0,03	1 пробирка
К-	Прозрачная жидкость	0,2	1 пробирка
ПКО SARS-CoV-2/Flu	Прозрачная жидкость	0,15	1 пробирка
ВКО R	Прозрачная жидкость	1,2	1 пробирка
ОКО	Прозрачная жидкость	1,2	1 пробирка
Набор реагентов рассчитан на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.			

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	-
Инструкция по применению	в электронном виде по адресу: http://www.nextbio.ru/reagents/
Краткое руководство	в бумажном виде
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: http://www.nextbio.ru/passport/
Комплект вкладышей	в бумажном виде

ХРАНЕНИЕ

Условия хранения набора
Контрольные образцы (ПКО SARS-CoV-2/Flu, ВКО R и ОКО) хранить при температуре от 2 °С до 8 °С. Все остальные реагенты хранить от минус 24 °С до минус 16 °С в защищенном от света месте. Необходимо минимизировать время нахождения Taq полимеразы и Ревертазы R при комнатной температуре.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Ручная методика экстракции

Экстракцию РНК проводить с использованием набора реагентов «АмплиПрайм РИБО-преп», «МагноПрайм ФАСТ-Р» или «МагноПрайм ЮНИ» в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора. Объемы реагентов и исследуемых образцов, используемые при экстракции РНК, указаны в таблице ниже.

Добавляемый реагент / образец		
ВКО R	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[1]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля)
Реагент для элюции РНК	50-100 мкл[2]	в каждую пробирку

Автоматическая методика экстракции.

Экстракцию РНК проводить с использованием набора реагентов «МагноПрайм ЮНИ» или «МагноПрайм ФАСТ-Р» в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора. Объемы реагентов и исследуемых образцов, используемые при экстракции РНК, указаны в таблице ниже.

Добавляемый реагент / образец		
ВКО R	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[1]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОК (отрицательного контроля)
Реагент для элюции РНК	100 мкл	в каждую пробирку

ВНИМАНИЕ! Допускается предварительное смешивание исследуемых образцов и отрицательного контрольного образца (ОКО) с Буфером L за пределами автоматической станции. Приготовление смеси МГС, Реагента А и ВКО R в соответствии с инструкцией к набору реагентов для проведения экстракции и ее добавление к исследуемым и контрольным образцам в Буфере L осуществляется на борту автоматической станции.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, проб РНК и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

1. Рассчитать объемы реагентов, необходимые для приготовления реакционной смеси, согласно таблице:

Компонент реакционной смеси	Объем, мкл	Обозначения
Буфер D	**10,0***(N+1)	N – количество образцов для проведения ОТ-ПЦР, включая контроли
Taq полимераза	**1,0***(N+1)	
Ревертаза R	**0,25***(N+1)	

ВНИМАНИЕ! Необходимо минимизировать время нахождения Taq полимеразы и Ревертазы R при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

2. Разморозить Буфер D и ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu. Перемешать содержимое пробирок с Буфером D, Taq полимеразой и Ревертазой R, осадить капли на вортексе.

---

[1] Для образцов мокроты требуется предварительная подготовка согласно разделу инструкции «Исследуемый материал».

[2] 50 мкл (при использовании наборов «АмплиПрайм РИБО-преп» или «МагноПрайм ЮНИ», при необходимости допускается увеличение объема элюции до 90 мкл) или 100 мкл (при использовании набора «МагноПрайм ФАСТ-Р»).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Приготовить реакционную смесь, добавив компоненты в отдельную пробирку в объемах, рассчитанных в п. 1. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.
4. Отобрать необходимое количество пробирок с ПЦР-смесью SARS-CoV-2/Flu для проведения ОТ-ПЦР РНК исследуемых и контрольных образцов.
5. Убедиться, что парафин полностью покрывает раствор на дне пробирок. В противном случае, не использовать данные пробирки.
6. Внести в подготовленные пробирки реакционную смесь и образцы согласно таблице:

Добавляемый реагент / образец	
Внести по 10 мкл	
Приготовленной реакционной смеси	в пробирки с ПЦР-смесью SARS-CoV-2/Flu на поверхность парафина **ВНИМАНИЕ!** Реакционная смесь не должна проваливаться под парафин.
Внести по 10 мкл	
ВНИМАНИЕ! Избегать попадания сорбента в реакционную смесь.	
Пробы РНК, экстрагированной из исследуемого образца	в пробирки для исследуемых образцов
Пробы, экстрагированной из ОКО	в пробирку для образца ОК (отрицательного контроля экстракции)
ПКО SARS-CoV-2/Flu	в пробирку для образца ПК (положительного контроля ОТ-ПЦР)
Реагент К-	в пробирку для образца К- (отрицательного контроля ОТ-ПЦР)

ВНИМАНИЕ! Провести ОТ-ПЦР сразу после внесения РНК-проб и контролей в реакционную смесь.

7. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» согласно инструкции по его применению для выполнения следующей программы:

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, R6G[3], ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания

1) Рекомендуемые параметры для программирования амплификаторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

8. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется предварительно осадить капли со стенок пробирок на вортексе.
9. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала согласно инструкции по применению используемого амплификатора.

АНАЛИЗ, ВЫЧИСЛЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

ВНИМАНИЕ! Обработку данных (флуоресцентных кривых), полученных в программном обеспечении прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для обработки данных указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

[3] Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Анализ, вычисление и интерпретацию результатов можно проводить:

- в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/;

- в ручном режиме с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», согласно инструкции по его применению и инструкции к набору.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера листов				Всего листов в документе	Номер извещения об изменении	Изменения внес	Дата
	изменённых	заменённых	новых	аннулированных				
1	-	1 - 4	5	-	5	09286667.031.2/4-2020	Ю.А. Дарикова	02.11.20

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

IVD

АмплиПрайм

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) и вирусов гриппа А, В, субтипа H1pdm09 (пандемического) гриппа А методом ОТ-ПЦР в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» по ТУ 21.20.23-085-09286667-2020

«АмплиПрайм ® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)»

Форма выпуска 2

REF X

ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: http://www.nextbio.ru/reagents/ (для ее получения необходим свободный бесперебойный доступ в интернет).

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ✓ мазки со слизистой носо- и ротоглотки;
- ✓ мокрота.

СОСТАВ

Компонент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu	Прозрачная жидкость	1,2	1 пробирка
Буфер С	Прозрачная жидкость	0,65	1 пробирка
Taq полимераза	Прозрачная жидкость	0,12	1 пробирка
Ревертаза R	Прозрачная жидкость	0,03	1 пробирка
К-	Прозрачная жидкость	0,2	1 пробирка
ПКО SARS-CoV-2/Flu	Прозрачная жидкость	0,15	1 пробирка
ВКО R	Прозрачная жидкость	1,2	1 пробирка
ОКО	Прозрачная жидкость	1,2	1 пробирка
Набор реагентов рассчитан на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.			

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	-
Инструкция по применению	в электронном виде по адресу: http://www.nextbio.ru/reagents/
Краткое руководство	в бумажном виде
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: http://www.nextbio.ru/passport/
Комплект вкладышей	в бумажном виде

ХРАНЕНИЕ

Условия хранения набора
Контрольные образцы (ПКО SARS-CoV-2/Flu, ВКО R и ОКО) хранить при температуре от 2 °С до 8 °С. Все остальные реагенты хранить от минус 24 °С до минус 16 °С в защищенном от света месте. Необходимо минимизировать время нахождения Taq полимеразы и Ревертазы R при комнатной температуре.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Ручная методика экстракции

Экстракцию РНК проводить с использованием набора реагентов «АмплиПрайм РИБО-преп», «МагноПрайм ФАСТ-Р» или «МагноПрайм ЮНИ» в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора. Объемы реагентов и исследуемых образцов, используемые при экстракции РНК, указаны в таблице ниже.

Добавляемый реагент / образец		
ВКО R	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[1]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля)
Реагент для элюции РНК	50-100 мкл[2]	в каждую пробирку

Автоматическая методика экстракции.

Экстракцию РНК проводить с использованием набора реагентов «МагноПрайм ЮНИ» или «МагноПрайм ФАСТ-Р» в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора. Объемы реагентов и исследуемых образцов, используемые при экстракции РНК, указаны в таблице ниже.

Добавляемый реагент / образец		
ВКО R	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[1]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОК (отрицательного контроля)
Реагент для элюции РНК	100 мкл	в каждую пробирку

ВНИМАНИЕ! Допускается предварительное смешивание исследуемых и отрицательного контрольного образца (ОКО) с Буфером L за пределами автоматической станции. Приготовление смеси МГС, Реагента А и ВКО R в соответствии с инструкцией к набору реагентов для проведения экстракции и ее добавление к исследуемым и контрольным образцам в Буфере L осуществляется на борту автоматической станции.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, проб РНК и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

1. Рассчитать объемы реагентов, необходимые для приготовления реакционной смеси, согласно таблице:

Компонент реакционной смеси	Объем, мкл	Обозначения
ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu	**10,0***(N+1)	N – количество образцов для проведения ОТ-ПЦР, включая контроли
Буфер С	**5,0***(N+1)	
Taq полимераза	**1,0***(N+1)	
Ревертаза R	**0,25***(N+1)	

ВНИМАНИЕ! Необходимо минимизировать время нахождения Taq полимеразы и Ревертазы R при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

---

[1] Для образцов мокроты требуется предварительная подготовка согласно разделу инструкции «Исследуемый материал».

[2] 50 мкл (при использовании наборов «АмплиПрайм РИБО-преп» или «МагноПрайм ЮНИ», при необходимости допускается увеличение объема элюции до 90 мкл) или 100 мкл (при использовании набора «МагноПрайм ФАСТ-Р»).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ВНИМАНИЕ! В случае приготовления реакционной смеси с помощью автоматической станции следуйте указаниям инструкции по ее использованию.

2. Разморозить Буфер С и ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu.
3. Перемешать содержимое пробирок с реагентами (см. таблицу в п.1), осадить капли на вортексе.
4. Приготовить реакционную смесь, добавив компоненты в отдельную пробирку в объемах, рассчитанных в п. 1. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.
5. Отобрать необходимое количество пробирок для проведения ОТ-ПЦР РНК исследуемых и контрольных образцов. Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора с системой детекции в режиме «реального времени».
6. Внести в подготовленные пробирки реакционную смесь и образцы согласно таблице:

Добавляемый реагент / образец	
Внести по 15 мкл	
Приготовленной реакционной смеси	в пробирки для исследуемых и контрольных образцов
Внести по 10 мкл	
ВНИМАНИЕ! Избегать попадания сорбента в реакционную смесь.	
Пробы РНК, экстрагированной из исследуемого образца	в пробирки для исследуемых образцов
Пробы, экстрагированной из ОКО	в пробирку для образца ОК (отрицательного контроля экстракции)
ПКО SARS-CoV-2/Flu	в пробирку для образца ПК (положительного контроля ОТ-ПЦР)
Реагент К-	в пробирку для образца К- (отрицательного контроля ОТ-ПЦР)

ВНИМАНИЕ! Провести ОТ-ПЦР сразу после внесения РНК-проб и контролей в реакционную смесь.

7. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» согласно инструкции по его применению для выполнения следующей программы:

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	**Температура, °С**	**Время**	**Детекция по каналам для флуорофоров**	**Количество циклов**
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, R6G[3], ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания

1) Рекомендуемые параметры для программирования амплификаторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

8. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется предварительно осадить капли со стенок пробирок на вортексе.
9. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала согласно инструкции по применению используемого амплификатора.

АНАЛИЗ, ВЫЧИСЛЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

ВНИМАНИЕ! Обработку данных (флуоресцентных кривых), полученных в программном обеспечении прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для обработки данных указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

[3] Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Анализ, вычисление и интерпретацию результатов можно проводить:

- в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/;

- в ручном режиме с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», согласно инструкции по его применению и инструкции к набору.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера листов				Всего листов в документе	Номер извещения об изменении	Изменения внес	Дата
	изменённых	заменённых	новых	аннулированных				
1	-	1 - 4	5	-	5	09286667.031.2/4-2020	Ю.А. Дарикова	02.11.20

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

IVD

АмплиПрайм

Краткое руководство

по применению набора реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) и вирусов гриппа А, В, субтипа H1pdm09 (пандемического) гриппа А методом ОТ-ПЦР в режиме «реального времени» «АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)» по ТУ 21.20.23-085-09286667-2020

«АмплиПрайм® SARS-CoV-2 / Flu (A/B/H1pdm09)»

Форма выпуска 3

REF X

ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: http://www.nextbio.ru/reagents/ (для ее получения необходим свободный бесперебойный доступ в интернет).

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ✓ мазки со слизистой носо- и ротоглотки;
- ✓ мокрота.

СОСТАВ

Компонент	Описание	Объем, мл	Количество
ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu	Прозрачная жидкость, раскапана под парафин белого цвета	0,01	100 пробирок (12,5 стрипов по 8 пробирок)
Буфер D	Прозрачная жидкость	1,2	1 пробирка
Taq полимераза	Прозрачная жидкость	0,12	1 пробирка
Ревертаза R	Прозрачная жидкость	0,03	1 пробирка
К-	Прозрачная жидкость	0,2	1 пробирка
ПКО SARS-CoV-2/Flu	Прозрачная жидкость	0,15	1 пробирка
ВКО R	Прозрачная жидкость	1,2	1 пробирка
ОКО	Прозрачная жидкость	1,2	1 пробирка
Набор реагентов рассчитан на проведение исследования 100 образцов, включая контроли.			

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	-
Инструкция по применению	в электронном виде по адресу: http://www.nextbio.ru/reagents/
Краткое руководство	в бумажном виде
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: http://www.nextbio.ru/passport/
Комплект вкладышей	в бумажном виде

ХРАНЕНИЕ

Условия хранения набора
Контрольные образцы (ПКО SARS-CoV-2/Flu, ВКО R и ОКО) хранить при температуре от 2 °С до 8 °С. Все остальные реагенты хранить от минус 24 °С до минус 16 °С в защищенном от света месте. Необходимо минимизировать время нахождения Taq полимеразы и Ревертазы R при комнатной температуре.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Ручная методика экстракции

Экстракцию РНК проводить с использованием набора реагентов «АмплиПрайм РИБО-преп», «МагноПрайм ФАСТ-Р» или «МагноПрайм ЮНИ» в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора. Объемы реагентов и исследуемых образцов, используемые при экстракции РНК, указаны в таблице ниже.

Добавляемый реагент / образец		
ВКО R	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[1]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОКО (отрицательного контроля)
Реагент для элюции РНК	50-100 мкл[2]	в каждую пробирку

Автоматическая методика экстракции.

Экстракцию РНК проводить с использованием набора реагентов «МагноПрайм ЮНИ» или «МагноПрайм ФАСТ-Р» в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора. Объемы реагентов и исследуемых образцов, используемые при экстракции РНК, указаны в таблице ниже.

Добавляемый реагент / образец		
ВКО R	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[1]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для ОК (отрицательного контроля)
Реагент для элюции РНК	100 мкл	в каждую пробирку

ВНИМАНИЕ! Допускается предварительное смешивание исследуемых и отрицательного контрольного образца (ОКО) с Буфером L за пределами автоматической станции. Приготовление смеси МГС, Реагента А и ВКО R в соответствии с инструкцией к набору реагентов для проведения экстракции и ее добавление к исследуемым и контрольным образцам в Буфере L осуществляется на борту автоматической станции.

АМПЛИФИКАЦИЯ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, проб РНК и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

1. Рассчитать объемы реагентов, необходимые для приготовления реакционной смеси, согласно таблице:

Компонент реакционной смеси	Объем, мкл	Обозначения
Буфер D	**10,0***(N+1)	N – количество образцов для проведения ОТ-ПЦР, включая контроли
Taq полимераза	**1,0***(N+1)	
Ревертаза R	**0,25***(N+1)	

ВНИМАНИЕ! Необходимо минимизировать время нахождения Taq полимеразы и Ревертазы R при комнатной температуре.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Неиспользованные остатки реакционной смеси хранению не подлежат.

2. Разморозить Буфер D и ПЦР-смесь SARS-CoV-2/Flu. Перемешать содержимое пробирок с Буфером D, Taq полимеразой и Ревертазой R, осадить капли на вортексе.

---

[1] Для образцов мокроты требуется предварительная подготовка согласно разделу инструкции «Исследуемый материал».

[2] 50 мкл (при использовании наборов «АмплиПрайм РИБО-преп» или «МагноПрайм ЮНИ», при необходимости допускается увеличение объема элюции до 90 мкл) или 100 мкл (при использовании набора «МагноПрайм ФАСТ-Р»).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

3. Приготовить реакционную смесь, добавив компоненты в отдельную пробирку в объемах, рассчитанных в п. 1. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.
4. Отобрать необходимое количество стрипов с ПЦР-смесью SARS-CoV-2/Flu для проведения ОТ-ПЦР РНК исследуемых и контрольных образцов.
5. Убедиться, что парафин полностью покрывает раствор на дне пробирок. В противном случае, не использовать данные пробирки.
6. Внести в подготовленные пробирки реакционную смесь и образцы согласно таблице:

Добавляемый реагент / образец	
Внести по 10 мкл	
Приготовленной реакционной смеси	в пробирки с ПЦР-смесью SARS-CoV-2/Flu на поверхность парафина **ВНИМАНИЕ!** Реакционная смесь не должна проваливаться под парафин.
Внести по 10 мкл	
ВНИМАНИЕ! Избегать попадания сорбента в реакционную смесь.	
Пробы РНК, экстрагированной из исследуемого образца	в пробирки для исследуемых образцов
Пробы, экстрагированной из ОКО	в пробирку для образца ОК (отрицательного контроля экстракции)
ПКО SARS-CoV-2/Flu	в пробирку для образца ПК (положительного контроля ОТ-ПЦР)
Реагент К-	в пробирку для образца К- (отрицательного контроля ОТ-ПЦР)

ВНИМАНИЕ! Провести ОТ-ПЦР сразу после внесения РНК-проб и контролей в реакционную смесь.

7. Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени» согласно инструкции по его применению для выполнения следующей программы:

Единая программа амплификации и детекции флуоресцентного сигнала

Цикл	**Температура, °С**	**Время**	**Детекция по каналам для флуорофоров**	**Количество циклов**
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	FAM, R6G[3], ROX, Cy5, Cy5.5	

Примечания

1) Рекомендуемые параметры для программирования амплификаторов указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

8. Установить стрипы в ячейки реакционного модуля прибора. Рекомендуется предварительно осадить капли со стенок пробирок на вортексе.
9. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала согласно инструкции по применению используемого амплификатора.

АНАЛИЗ, ВЫЧИСЛЕНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

ВНИМАНИЕ! Обработку данных (флуоресцентных кривых), полученных в программном обеспечении прибора, используемого для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», проводить согласно инструкции по его применению. Рекомендуемые параметры для обработки данных указаны во вкладыше, прилагаемом к набору.

[3] Детекция сигнала для флуорофора R6G осуществляется по каналу детекции для аналогичных флуорофоров HEX, JOE, Yellow, VIC.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Анализ, вычисление и интерпретацию результатов можно проводить:

- в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения FRT Manager (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно руководству пользователя, выбрав методику, указанную во вкладыше, прилагаемом к набору. Руководство пользователя размещено на официальном сайте ООО «ИнтерЛабСервис» по адресу: https://www.interlabservice.ru/service/frt/;

- в ручном режиме с помощью программного обеспечения прибора, используемого для проведения ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени», согласно инструкции по его применению и инструкции к набору.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Лист регистрации изменений

Изм.	Номера листов				Всего листов в документе	Номер извещения об изменении	Изменения внес	Дата
	изменён ных	заменён ных	новых	аннулир ованных				
1	-	1 - 4	5	-	5	09286667.031. 2/4-2020	Ю.А. Дарикова	02.11.20

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Пронумеровано, скреплено и прошито
16 лист (а/ов)



Генеральный директор Общества с ограниченной ответственностью «НекстБио»

_____О.О. Лавинюков

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru