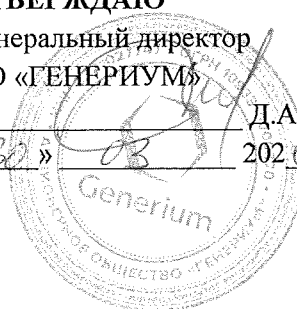


**УТВЕРЖДАЮ**

Генеральный директор  
АО «ГЕНЕРИУМ»

Д.А. Кудлай  
« 30 » 2020 г.



**ИНСТРУКЦИЯ**

по применению на медицинское изделие для диагностики *in vitro*

**«Набор реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2 методом петлевой изотермальной  
амплификации «Изотерм SARS-CoV-2 РНК-скрин»»  
по ТУ 21.20.23-069-26329720-2020**

## НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2 методом петлевой изотермальной амплификации «Изотерм SARS-CoV-2 РНК-скрин» по ТУ 21.20.23-069-26329720-2020 (далее по тексту – *набор реагентов*), предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в образцах, полученных из назальных и/или назофарингеальных мазков, или раствора бронхоальвеолярного лаважа (далее по тексту – анализируемые образцы), методом петлевой изотермальной амплификации.

Функциональное назначение: вспомогательное средство в диагностике *in vitro* (выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2).

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

Набор реагентов используется для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 у лиц с симптомами ОРВИ и контактировавшими с заболевшим COVID-19, не зависимо от их возраста, лицам всех возрастов без признаков ОРВИ (в очагах инфекции/ в условиях распространения инфекции) с целью раннего выявления коронавируса для предотвращения дальнейшего распространения инфекции.

### Сокращенное наименование медицинского изделия для диагностики *in vitro*

«Изотерм SARS-CoV-2 РНК-скрин»

### ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Только для профессионального использования.

Сотрудники клиничко-диагностических лабораторий медицинских учреждений.

### ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

#### 1 Состав набора реагентов

Набор реагентов предназначен для ручной постановки анализа.

Т а б л и ц а 1 - Комплектность набора реагентов

Наименование	Количество
<i>Компоненты</i>	
«К+» – положительный контроль, прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300	1 пробирка (100 мкл)
«К-» – отрицательный контроль – прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300	1 пробирка (100 мкл)
«РС» – реакционная смесь – прозрачная бесцветная жидкость. Консерванты: 0,1 % проклин 300	1 пробирка (1,5 мл)
«Фермент» – ДНК-полимераза – прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300	1 пробирка (130 мкл)
«Лизирующий буфер» - прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300	1 флакон (6,0 мл)
Планшет 96-луночный для проведения ПЦР	1 шт.
Пленка для запаивания планшета 96-луночного	1 шт.
<i>Эксплуатационная документация</i>	
Инструкция по применению набора реагентов	1 шт.

Примечание

Паспорт на серию входит в комплект поставки набора реагентов. Число экземпляров паспорта каждой серии, определено в договоре на поставку продукции.

## **2 Число анализируемых образцов биологического материала**

Набор реагентов предназначен для выполнения 96 определений, включая контрольные образцы.

## **3 Принцип метода**

Для определения наличия или отсутствия инфекционных агентов в биологических жидкостях человека проводят амплификацию генетического материала возбудителя инфекции. Помимо широко распространенного метода амплификации нуклеиновых кислот полимеразной цепной реакцией на сегодняшний день применяется петлевая изотермальная амплификация. В основе данной методики лежит реакция синтеза нуклеиновых кислот с вытеснением цепи, катализируемая ДНК-полимеразой I из термофильной бактерии *Bacillus stearothermophilus*.

Отличительными особенностями петлевой изотермальной амплификации является проведение реакции при постоянной температуре 60 – 65 °С, быстрое накопление продуктов реакции (15 – 60 мин), возможность совмещения реакции с обратной транскрипцией, низкой чувствительностью к примесям, возможность использования в качестве исходной матрицы кровь или другие биологические жидкости.

Выявление наличия или отсутствия РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологических жидкостях человека включает в себя две стадии: экстракцию РНК коронавируса SARS-CoV-2 из анализируемых образцов и петлевую изотермальную амплификацию, с использованием специфических олигонуклеотидных последовательностей и модифицированной ДНК-полимеразы I из термофильной бактерии *Bacillus stearothermophilus*.

Для контроля анализа в наборе реагентов предусмотрены контрольные образцы: «К+» и «К-».

### **ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ**

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

«К-» (Отрицательный контроль), представляет собой раствор, НЕ содержащий плазмидную ДНК со вставкой фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2.

«К+» (Положительный контроль), представляет собой раствор, содержащий плазмидную ДНК со вставкой фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации 10 000 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца.

«РС» (Реакционная смесь), представляет собой смесь специфических олигонуклеотидных последовательностей в необходимом для проведения реакции буферном растворе.

«Фермент» (ДНК-полимераза), представляет собой раствор фермента ДНК-полимеразы в необходимом для проведения реакции буферном растворе.

«Лизирующий буфер», представляет собой буферный раствор для лизирования вирусных частиц и эпителиальных клеток в мазке.

### **АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ**

#### *1 Чувствительность*

Чувствительность набора реагентов определяли с использованием рабочей панели образцов «РП РНК(+/-)SARS-CoV-2», содержащих плазмидную ДНК со вставкой фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2 (далее по тексту – рабочая панель образцов), аттестованной отделом биологического и технологического контроля (далее по тексту – ОБТК), ООО «Медико-биологический Союз». Чувствительность набора реагентов с образцами рабочей панели без ложноотрицательных результатов должна быть не менее 100 %.

#### *2 Предел обнаружения*

Предел обнаружения набора реагентов определяли с использованием рабочей панели образцов, аттестованной ОБТК ООО «Медико-биологический Союз».

Предел обнаружения набора реагентов составляет 1000 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца при выделении РНК с использованием компонента набора реагентов «Лизирующий

буфер» и при выделении РНК вируса SARS-CoV-2 с использованием «ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС», производства ООО «НПО ДНК-Технология» (см. раздел «Подготовка анализируемых образцов»).

### 3 Диагностическая чувствительность

Диагностическую чувствительность выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 определяли в ходе клинико-лабораторных испытаний на 30 положительных образцах. В ходе предварительных испытаний было проверено 90 положительных образцов. Таким образом, суммарно было проверено 120 положительных образцов, показана 100 % чувствительность (интервал (96,9-100,0) %, с доверительной вероятностью 95%).

### 4 Специфичность

Специфичность набора реагентов определяли с использованием рабочей панели образцов, аттестованной ОБТК ООО «Медико-биологический Союз». Специфичность набора реагентов с образцами рабочей панели без ложноположительных результатов должна быть не менее 100 %.

### 5 Диагностическая специфичность

Диагностическую специфичность выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 определяли в ходе клинико-лабораторных испытаний на 30 отрицательных образцах. В ходе предварительных испытаний было проверено 90 отрицательных образцов. Таким образом, суммарно было проверено 120 отрицательных образцов, показана 100 % специфичность (интервал (96,9-100,0) %, с доверительной вероятностью 95%).

### 6 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность набора реагентов проверялась *in silico* со следующими инфекционными агентами:

Коронавирус 229E	Риновирус
Коронавирус OC43	Параэховирус
Коронавирус HKU1	<i>Candida albicans</i>
Коронавирус NL63	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>
SARS-коронавирус	<i>Legionella (non-pneumophila)</i>
MERS- коронавирус	<i>Bacillus anthracis (Anthrax)</i>
Аденовирус	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Метапневмовирус человека	<i>Neisseria elongata and Neisseria meningitidis</i>
Парагрипп первого типа	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Парагрипп второго типа	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Парагрипп третьего типа	<i>Streptococcus salivarius</i>
Парагрипп четвертого типа	<i>Leptospira sp.</i>
Грипп типа А	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>
Грипп типа В	<i>Chlamydophila psittaci</i>
Грипп типа С	<i>Coxiella burnetii (Q-Fever)</i>
Энтеровирус	<i>Staphylococcus aureus</i>
Респираторный синцитиальный вирус типа А	<i>Haemophilus influenzae</i>
Респираторный синцитиальный вирус типа В	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Pneumocystis jirovecii (PJP)</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>

Для анализа использовали он-лайн доступные ресурсы: BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), а также MUSCLE (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>).

Среди протестированных организмов, только для SARS-коронавируса показана гомология с фрагментом последовательности участка SARS-CoV-2, которая составляет 82%. С такой степенью гомологии невысока вероятность получения какого-либо значимого сигнала в представленной диагностической системе.

Для всех других проанализированных микроорганизмов гомологии не обнаружено.

Проведенный анализ *in silico* указывает на то, что неспецифическая амплификация, которая могла бы привести к перекрестной реакции или повлиять на амплификацию целевого участка SARS-CoV-2, крайне маловероятна.

## *5 Воспроизводимость*

Внутрисерийная воспроизводимость анализа была протестирована с использованием трех образцов, полученных из назальных/назофарингеальных мазков, с добавлением плазмидной ДНК со вставкой фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации 1000 копий РНК вируса SARS-CoV-2 на 1 мл анализируемого образца, в 15 повторах на наборах реагентов одной серии. Коэффициент вариации не превысил 10 %.

Межсерийная воспроизводимость анализа была протестирована с использованием трех образцов, полученных из назальных/назофарингеальных мазков, с добавлением плазмидной ДНК со вставкой фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации 1000 копий РНК вируса SARS-CoV-2 на 1 мл анализируемого образца, на 10 сериях набора реагентов. Коэффициент вариации не превысил 10 %.

## *6 Интерферирующие вещества*

Наличие муцина (до 5 % по объёму) или цельной крови (до 5 % по объёму) в назальных и/или назофарингеальных мазках не влияет на результат анализа.

## **МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Потенциальный риск применения набора реагентов – класс **3** в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.06.2012 г. «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий».

При работе с набором реагентов соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.). Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению РНК SARS-CoV-2, обязаны обеспечивать безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные;
- при удалении пробирок, содержащих продукты ПЦР, недопустимо их открывание и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов;
- применять набор реагентов строго по назначению, согласно данной инструкции;
- допускать к работе с набором реагентов только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики.
- не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

Компоненты набора «К+», «К-», «Фермент», «РС» и «Лизирующий раствор» содержат в качестве консерванта 0,1 % проклина 300.

Гуанидин гидрохлорид, входящий в состав «Лизирующего буфера», обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые.

Все реактивы, входящие в состав компонентов набора реагентов в используемых концентрациях, являются нетоксичными. При попадании данных растворов на кожу и слизистые промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты (блузон, брюки, халат, шапочку, тапочки или сабо, очки защитные, полумаску, одноразовые перчатки, нарукавники одноразовые).

Все использованные материалы, инструменты и оборудование, рабочие поверхности дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения». Материалы, подлежащие обеззараживанию, подвергать обработке дезсредствами, разрешенными для применения на территории РФ. Инструменты и оборудование, а также поверхности, на которых проводился анализ, обработать дезсредствами, разрешенными для

применения на территории РФ, например, раствором этилового спирта (ГОСТ Р 51652) с объемной долей 70 % в течение 10 секунд.

Обеззараживание и/или обезвреживание и утилизацию всех анализируемых образцов, компонентов и отходов набора реагентов, несущих потенциальную биологическую опасность, производить в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению.

## **ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

Для работы с набором реагентов необходимо нижеперечисленное оборудование:

- амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени планшетного типа (далее по тексту - амплификатор): «CFX96», (фирма «Bio-Rad», США), «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия);
- бокс абактериальной воздушной среды 2-го класса биологической защиты или ПЦР-бокс;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 25 °С до 98 °С;
- холодильник, поддерживающий температуру от 2 °С до 8 °С, и/или холодильник с морозильной камерой, поддерживающей температуру до минус 20 °С;
- таймер/часы;
- одноканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 0,5 до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 %;
- микроцентрифуга лабораторная.

*Для работы с набором реагентов необходимы следующие материалы:*

- одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером;
- одноразовые наконечники для полуавтоматических одноканальных дозаторов пипеточных;
- пробирки стерильные одноразовые полипропиленовые вместимостью 1,5 – 2,0 мл;
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные;
- нарукавники одноразовые;
- контейнер для сбора и обеззараживания наконечников.
- «Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009 в двух формах комплектации: комплект ПРОБА-НК и комплект ПРОБА-НК-ПЛЮС», производства ООО «НПО ДНК-Технология», Рег. удостоверение № ФСР 2010/08867 (при необходимости).

## **АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

Идентификацию и прослеживаемость проб пациента (назальные, назофарингеальные мазки слизистой верхних дыхательных путей или раствор бронхоальвеолярного лаважа) проводить в соответствии с системой менеджмента качества лаборатории.

Взятие, хранение и транспортирование анализируемых образцов осуществлять согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» и «Временным методическим рекомендациям по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCoV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)», утвержденными Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации от 21.01.2020 г.

Перед постановкой анализа анализируемые образцы, хранившиеся в холодильной/морозильной камере, прогреть до температуры от 17 до 27 °С и аккуратно перемешать.

Избегать повторных циклов замораживания - оттаивания образцов.

## **ПРИЧИНЫ СНИЖЕНИЯ ПРАВИЛЬНОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ**

Использование компонентов набора реагентов с истекшим сроком годности.

Использование компонентов из наборов реагентов разных серий или смешивание их в процессе приготовления растворов.

Использование компонентов из наборов реагентов других производителей.

Несоблюдение условий и сроков хранения не вскрытых компонентов набора реагентов.

Несоблюдение условий и сроков хранения вскрытых компонентов набора реагентов.

Неправильное дозирование растворов, которое приводит как к росту, так и к снижению регистрируемой флуоресценции.

Изменение концентрации раствора за счет испарения жидкости из открытого флакона с компонентом.

Использование для работы с компонентами, анализируемыми и контрольными образцами грязных наконечников.

Использование для дезинфекции посуды, оборудования, материалов и рабочих поверхностей неразрешенных и/или оказывающих влияния на результат изотермальной петлевой амплификации дезсредств. Рекомендуется использовать, например, хлорамин и другие хлорсодержащие средства.

Рекомендуется использовать перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные и нарукавники одноразовые.

Проведение анализа в неблагоприятных условиях окружающей среды, например, при температуре воздуха, в лаборатории выше 27°C и относительной влажности воздуха более 70 %.

Недостаточное перемешивание компонентов набора реагентов.

## **ПОДГОТОВКА ОБОРУДОВАНИЯ**

Для проведения анализа с помощью набора реагентов с использованием амплификатора, необходимо его подготовить **заранее** в соответствии с руководством по эксплуатации.

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

## **ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ**

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

Из анализируемых образцов необходимо выделить РНК. Процедуру выделения можно провести одним из двух методов, описанных ниже.

### **1. Выделение РНК с использованием компонента набора реагентов «Лизирующий буфер»**

*«Лизирующий буфер» перед использованием достать из коробки, проверить целостность упаковки и инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут.*

После того как «Лизирующий буфер» прогреется в течение 30 минут, в пробирки типа Эпэндорф вместимостью 1,5 – 2,0 мл вносят 150 мкл анализируемого образца и 50 мкл «Лизирующего буфера». Пробирки инкубируют в термостате твердотельном при температуре 65 °С в течение 15 минут.

После инкубации пробирки с образцами содержать при температуре от 2 до 8 °С не более 20 минут.

### **2. Выделение РНК с использованием «ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС», производства ООО «НПО ДНК-Технология»**

Процедуру выделения провести в соответствии с инструкцией по применению на медицинское изделие «ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС», производства ООО «НПО ДНК-Технология».

После выделения в пробирки типа Эпэндорф вместимостью 1,5 – 2,0 мл вносят 30 мкл выделенной РНК и 10 мкл «Лизирующего буфера».

***Внимание!** «Лизирующий буфер» перед использованием достать из упаковки и инкубировать при комнатной температуре в течение 30 минут.*

## ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

### Подготовка набора реагентов

Вскрыть упаковку с компонентами набора реагентов. Пробирки с компонентами набора реагентов проверить на целостность и срок годности. При обнаружении повреждения или при истечении срока годности компоненты набора реагентов следует обработать в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению.

Все компоненты набора реагентов готовы к использованию.

Перед применением все компоненты набора реагентов, **кроме «РС» и «Фермент»**, инкубировать при комнатной температуре до достижения комнатной температуры, аккуратно перемешать и осадить капли с крышки пробирки кратким центрифугированием в течение 1-3 секунд.

*Хранение:* неиспользованные и вскрытые компоненты хранить при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора реагентов.

**ВНИМАНИЕ!** *Запрещается хранение компонентов «РС» и «Фермент» при комнатной температуре*

### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

<i><b>ВНИМАНИЕ!</b> При работе с набором реагентов и образцами выделенной РНК необходимо использовать одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free. Для манипуляций с реагентами, образцами выделенной РНК и контрольными образцами использовать одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером</i>		
<i><b>ВНИМАНИЕ!</b> Компоненты реакционной смеси («РС» и «Фермент») смешивать непосредственно перед проведением анализа</i>		
<b>Подготовка планшета 96-луночного</b>	Достать планшет 96-луночный из пакета с zip-lock. Рассчитать количество лунок в соответствии с количеством <i>образцов выделенной РНК</i> и контрольных образцов, исходя из того, что каждый <i>образец выделенной РНК</i> будет анализироваться в одном повторе. Расчет количества лунок производится по формуле: Количество лунок = $n + 2$ , где $n$ – количество <i>образцов выделенной РНК</i> , 2 – «К+» и «К-» При необходимости промаркировать лунки согласно идентификационному номеру исследуемого образца.	
<i><b>ВНИМАНИЕ!</b> В зависимости от используемого оборудования для проведения анализа надписи на планшете следует располагать таким образом, чтобы они не мешали детектированию флуоресцентного сигнала. См. руководство по эксплуатации амплификатора</i>		
<b>Приготовление реакционной смеси</b>	В пробирке вместимостью 1,5 – 2,0 мл для приготовления реакционной смеси смешать компоненты «РС» и «Фермент», из расчета на необходимое число лунок, согласно приведенной ниже таблице. Перемешать приготовленный раствор на встряхивателе и осадить капли с крышки пробирки кратким центрифугированием (1-3 с)	
<i><b>ВНИМАНИЕ!</b> При необходимости возможно хранение смеси компонентов «РС» и «Фермент» в течение 30 минут при температуре от 2 до 8°С</i>		
<i>Название компонента</i>	<i>Объем реагента на один образец (без учета контрольных образцов)</i>	<i>Объем реагента для анализа <math>n</math> образцов выделенной РНК с учетом постановки контрольных образцов</i>
«РС»	14 мкл	$(N + 1) * 14$ мкл
«Фермент»	1 мкл	$(N + 1)$ мкл
$N = n + 2$ , где $n$ - количество <i>образцов выделенной РНК</i> , 2 - «К+» и «К-». <i>Пример: Количество образцов выделенной РНК – 5 шт.</i> $N = 5 + 2 = 7$ .		



<i>Следовательно, необходимо смешать: <math>(7 + 1) * 14 \text{ мкл} = 112 \text{ мкл}</math> «РС» и <math>(7 + 1) = 8 \text{ мкл}</math> «Фермент»</i>	
<b>Внесение реакционной смеси</b>	В каждую промаркированную лунку 96-луночного планшета внести по 15 мкл реакционной смеси
<b>Внесение образцов в пробирки</b>	В каждую промаркированную лунку 96-луночного планшета внести по 5 мкл подготовленных <i>образцов выделенной РНК</i> , затем в предпоследнюю и последнюю - по 5 мкл контрольных образцов «К+» и «К-», соответственно. Отрезать фрагмент подходящего размера от входящей в набор реагентов пленки для запаивания и наклеить его на промаркированные лунки. Перед постановкой в амплификатор рекомендуется осадить капли со стенок лунок кратким центрифугированием (1-3 с).
<b>ВНИМАНИЕ!</b> <i>Планшет с реакционной смесью и образцами выделенной РНК незамедлительно поставить в заранее подготовленный амплификатор и начать проведение анализа!</i>	
<b>Регистрация результатов анализа</b>	Выполнить в соответствии с «Процедурой измерения и оценки результата»

### Процедура измерения и оценка результата

Внести в амплификатор программу проведения петлевой изотермальной амплификации и детекции флуоресцентных сигналов:

Условия реакции	50 циклов по 30 секунд с измерением флуоресценции на канале <b>SYBR (FAM)</b> каждые 30 секунд Температура 65 °С
-----------------	---

Для детектирования следует выбрать канал детекции **SYBR (FAM)**.

Запрограммировать положение пробирок с контрольными и *образцами выделенной РНК* согласно инструкции к прибору.

Поместить планшет с реакционной смесью и образцами выделенной РНК в амплификатор.

Запустить программу и провести петлевую изотермальную амплификацию с флуоресцентной регистрацией в режиме реального времени.

### УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

#### Условия правильности работы набора реагентов

В положительном контроле «К+» прибор должен определять:

– нарастание сигнала флуоресценции в канале **SYBR (FAM)**.

В отрицательном контроле «К-» прибор НЕ должен:

– фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале **SYBR (FAM)**.

В анализируемом образце, при наличии РНК коронавируса SARS-CoV-2, прибор должен:

– фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале **SYBR (FAM)** и определять значение порогового цикла  $C_t$  (пересечение кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией) в канале **SYBR (FAM)**;

В анализируемом образце, НЕ содержащем РНК коронавируса SARS-CoV-2, прибор НЕ должен:

– фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале **SYBR (FAM)** и определять  $C_t$  в канале **SYBR (FAM)**.

#### Учет результатов анализа

Для отрицательного контроля «К-»: значение  $C_t$  в канале **SYBR (FAM)** не должно определяться. Если для «К-» значение  $C_t$  меньше 50 циклов, то это свидетельствует о наличии контаминации в системе. В этом случае результаты по данной постановке считаются недостоверными. Требуется предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить анализ всех образцов данной постановки, для которых получен положительный результат. Образцы данной постановки, анализ которых дал отрицательный результат, следует учитывать, как отрицательные.

Для положительного контроля «К+»: значение Ct в канале **SYBR (FAM)** должно быть менее 50 циклов.

#### **Интерпретация результатов анализа**

Если в анализируемом образце значение Ct в канале **SYBR (FAM)** не определяется или составляет более 50 циклов, анализируемый образец считать **отрицательным**, то есть не содержащим РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Если в анализируемом образце значение Ct в канале **SYBR (FAM)** составляет менее 50 циклов, анализируемый образец считать **положительным**, то есть содержащим РНК коронавируса SARS-CoV-2.

#### **ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА**

Для определения наличия или отсутствия РНК коронавируса SARS-CoV-2, рекомендуется использовать назальные и/или назофарингеальные мазки в транспортной среде, или раствор бронхоальвеолярного лаважа, так как РНК коронавируса SARS-CoV-2 может не выявляться в других клинических образцах.

#### **УТИЛИЗАЦИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ**

В процессе использования и утилизации набора реагентов с истекшим сроком годности токсичные отходы не образуются.

Отходы, образующиеся в процессе использования и утилизации набора реагентов с истекшим сроком годности, относить к классу Б.

Набор реагентов с истекшим сроком годности утилизировать как отходы класса Б.

Обращение (сбор, временное хранение, обеззараживание и/или обезвреживание и транспортирование) отходов, образующихся в процессе использования и утилизации набора реагентов с истекшим сроком годности, проводить согласно СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Для обеззараживания и/или обезвреживания отходов в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» использовать зарегистрированные в РФ дезсредства и оборудование в соответствии с инструкциями по их применению.

Отходы утилизировать через организации, имеющие лицензию на этот вид деятельности.

#### **СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ**

Срок годности набора реагентов - 6 месяцев\*.

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

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Набор реагентов хранить в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 «Условия транспортирования и хранения иммунобиологических лекарственных препаратов» при температуре от 2 до 8 С в течение срока годности.

Транспортирование набора реагентов производить в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 при температуре от 2 до 8 С.

Набор реагентов не замораживать.

Примечание: \* Данные не подтверждены исследованиями в реальном времени. Исследование стабильности набора реагентов в реальном времени продолжается.

#### **Условия применения набора реагентов:**

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

## ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие выпускаемого набора реагентов требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки набора реагентов, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил применения, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить набор реагентов, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления набора реагентов производителем.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, обращаться в АО «ГЕНЕРИУМ» по адресу: 601125, Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский, ул. Заводская, стр. 273.

Тел./ф. +7 (49243)72-5-20, 72-5-14.

### Символы, применяемые для маркировки компонентов набора реагентов

Символ	Наименование символа	Символ	Наименование символа
<b>ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014</b>			
	Для диагностики in vitro		Код партии
	Содержимого достаточно для 96 тестов		Использовать до
	Не использовать повторно		Температурный диапазон
	Беречь от влаги		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Не использовать при повреждённой упаковке		
<b>ГОСТ 31340-2013</b>			
	«Восклицательный знак» Сигнальное слово: «Осторожно» Место нанесения: «Лизирующий буфер» H302: Вредно при проглатывании H315: При попадании на кожу вызывает раздражение H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение		

Дата создания 30.03.2020 г.