



646-3 2025-06-18



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления нуклеиновых кислот
возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека
методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени

ОРВИ Комплекс

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2022/17008 от 16 июня 2025 года

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	5
2.1	Состав набора реагента	5
2.2	Количество анализируемых образцов.....	6
2.3	Принцип метода	6
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	8
3.1	Аналитическая специфичность	8
3.2	Интерферирующие вещества	9
3.3	Предел обнаружения	9
3.4	Диагностические характеристики.....	11
3.5	Внутри- и межсерийная воспроизводимость	11
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	11
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	14
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	16
6.1	Материал для исследования	16
6.2	Общие требования	16
6.3	Взятие материала на исследование	16
6.4	Транспортирование и хранение образцов биологического материала.....	18
6.5	Подготовка биологического материала для выделения НК.....	18
7	ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	19
7.1	Выделение нуклеиновых кислот из биологического материала	19
7.2	Подготовка и проведение ОТ-ПЦР. Фасовка S	21
7.3	Подготовка и проведение ОТ-ПЦР. Фасовка А	24
8	РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ	26
9	УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ	26
10	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	30
10.1	Транспортирование	30
10.2	Хранение.....	30
10.3	Указания по эксплуатации.....	30
11	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	31
12	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	31
13	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	31
14	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	32
15	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	32
16	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	34
	Приложение А.....	35
	Приложение Б.....	36
	Приложение В.....	37

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

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

1 ПРЕНАНАНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выявления нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (ОРВИ Комплекс), далее по тексту – набор реагентов.

1.2 Назначение: набор реагентов предназначен для выявления и дифференциации нуклеиновых кислот возбудителей эпидемических и сезонных острых респираторных вирусных инфекций человека (коронавирус SARS-CoV-2, вирусы гриппа А и В, респираторно-синцитиальный вирус, вирусы парагриппа 1–4 типов, риновирус, аденовирус, метапневмовирус, коронавирусы HKU1, NL63, OC43, 229E, бокавирус) в биологическом материале человека (мазок из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират, мокрота) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

1.3 Функциональное назначение: диагностика *in vitro*.

1.4 Показания к проведению исследования:

- наличие симптомов и контакт с больными ОРВИ;
- пребывание в очагах инфекции (с целью раннего выявления возможного инфицирования и предотвращения дальнейшего распространения);
- дифференциальная диагностика ОРВИ.

Противопоказаний к применению нет.

1.5 Популяционные и демографические аспекты: применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.6 Область применения: набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

1.7 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории: врач клинико-диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (медицинский лабораторный техник).

1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов выпускается в стандартной фасовке (маркируется – фасовка S) и в фасовке для автоматизированного дозирования (маркируется – фасовка А).

2.1 Состав набора реагентов

REF R3-P439-S3/5, фасовка S, стрипы			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Прозрачная бесцветная, розовая или голубая жидкость под воскообразным белым слоем	24 стрипа по 8 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 1,5 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	100 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	250 мкл
Буфер для растворения	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	320 мкл
Крышки для стрипов	24 шт.		

REF R3-P439-XA/4, фасовка А			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смеси для амплификации Стрим	Прозрачная бесцветная, розовая или голубая жидкость	2 стрипа по 8 пробирок	по 120 мкл
ОТ-ПЦР-буфер Стрим	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 600 мкл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	2 пробирки	по 60 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	500 мкл
Буфер для разведения НК	Прозрачная бесцветная жидкость	4 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 100 мкл
Стрипы по 8 пробирок	10 шт.		

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

Комплектность:

- Набор реагентов в одном из вариантов исполнения – 1 шт.;
- Вкладыш (только фасовка S) – 1 экз.;
- Инструкция по применению – 1 экз.;
- Паспорт – 1 экз.

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

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов в фасовке S рассчитан на проведение 24 определений (не более 8 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

Набор реагентов в фасовке А рассчитан на проведение 48 определений (одна постановка на 48 образцов или две постановки по 24 образца), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

2.3 Принцип метода

Метод: обратная транскрипция (ОТ) РНК с последующей амплификацией фрагментов кДНК (для РНК-содержащих вирусов) или ДНК (для ДНК-содержащих вирусов) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени; мультиплексный качественный анализ.

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

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

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта. Для фасовки S «горячий» старт обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоев, разделенных прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в реакционную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифическое связывание праймеров с кДНК/ДНК-мишенью при начальном прогреве пробирки. «Горячий» старт для фасовки А обеспечивается использованием полимеразы, активность которой блокирована антителами, активация фермента происходит только после предварительного прогрева реакционной смеси при 94 °С. Это исключает неспецифическое связывание праймеров с кДНК/ДНК-мишенью при начальном прогреве пробирки.

В состав набора реагентов включен внутренний контрольный образец РНК-ВК (фасовка А) или РНК-ВК "А" (фасовка S), который добавляется в анализируемые образцы на стадии выделения НК и предназначен для оценки этапа выделения нуклеиновых кислот и качества прохождения полимеразной цепной реакции.

В реакционные смеси для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфического продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется детектирующим амплификатором. Количество разрушенных зондов

(а, следовательно, и уровень флуоресценции) возрастает пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов. Уровень флуоресценции измеряется на каждом цикле амплификации в режиме реального времени.

В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продукта амплификации искомой кДНК/ДНК возбудителей ОРВИ, включена флуоресцентная метка Fam, Rox или Cy5.

В состав ДНК-зондов, используемых для детекции продукта внутреннего контрольного образца (РНК-ВК или РНК-ВК "А"), входит флуоресцентный краситель Hex.

Для контроля расположения стрипов в термоблоке детектирующего амплификатора, в смесь для амплификации пробирки №3 добавлен олигонуклеотид с флуоресцентной меткой Rox – «Маркер». Он используется детектирующим амплификатором для определения положения стрипа в термоблоке. После окончания программы программное обеспечение проводит сравнение заданного оператором расположения маркера с его реальным положением и, если находит несовпадение (при неправильном расположении стрипа), то предупреждает оператора об этом несоответствии.

Использование нескольких флуоресцентных красителей позволяет сократить количество пробирок и биоматериала, необходимого для проведения исследования, поскольку появляется возможность одновременно регистрировать результаты разных реакций амплификации, проходящих в одной пробирке.

В таблицах 1, 2 приведены выявляемые показатели, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации.

Исследование состоит из следующих этапов: выделение нуклеиновых кислот (пробоподготовка), реакция обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации кДНК/ДНК с одновременной детекцией результатов в режиме реального времени с использованием набора реагентов ОРВИ Комплекс.

Таблица 1 – Выявляемые показатели, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации (фасовка S)

Номер пробирки в стрипе	Выявляемый показатель, каналы детекции				Цветовая маркировка смеси
	Fam	Hex	Rox	Cy5	
1	Influenza A virus	ВК ¹	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	Influenza B virus	Голубая
2	Human parainfluenza virus type 2	ВК	Human parainfluenza virus type 4	Human coronavirus 229E	Бесцветная или розовая
3	Human bocavirus	ВК	Маркер	Human rhinovirus	
4	Human respiratory syncytial virus	ВК	-	Human coronavirus HKU1	
5	Human adenovirus	ВК	-	Human coronavirus NL63	
6	Human coronavirus OC43	ВК	-	Human parainfluenza virus type 3	
7	Human parainfluenza virus type 1	ВК	-	-	
8	Human metapneumovirus	ВК	-	-	

¹ – внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"

Таблица 2 – Выявляемые показатели, цветовая маркировка и каналы детекции продуктов амплификации (фасовка А)

Номер пробирки в стрипе	Выявляемый показатель, каналы детекции				Цветовая маркировка смеси
	Fam	Hex	Rox	Cy5	
1	Influenza A virus	-	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	-	Голубая
2	Human parainfluenza virus type 2	-	Human parainfluenza virus type 4	Human coronavirus 229E	Бесцветная или розовая
3	Human bocavirus	-	Маркер	Human rhinovirus	
4	Human respiratory syncytial virus	-	-	Human coronavirus HKU1	
5	Human adenovirus	-	-	Human coronavirus NL63	
6	Human coronavirus OC43	-	-	Human parainfluenza virus type 3	
7	Human parainfluenza virus type 1	-	-	-	
8	Human metapneumovirus	БК ¹	-	Influenza B virus	

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Аналитическая специфичность

В образцах биологического материала, содержащих нуклеиновые кислоты выявляемых аналитов, программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать положительные результаты амплификации специфических продуктов (фрагментов геномов выявляемых вирусов) в соответствующих пробирках по заявленным каналам детекции.

В образцах биологического материала, не содержащих нуклеиновые кислоты выявляемых аналитов, программное обеспечение детектирующего амплификатора должно регистрировать отрицательные результаты амплификации специфических продуктов (фрагментов геномов выявляемых вирусов) в соответствующих пробирках по заявленным каналам детекции и положительный результат амплификации внутреннего контроля в соответствующих пробирках по каналу детекции Hex.

Показано отсутствие перекрестных неспецифических реакций каждого компонента, входящего в состав набора, по отношению к другой мишени системы.

Показано отсутствие неспецифических положительных результатов амплификации при наличии в образце нуклеиновых кислот типичных представителей *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp., *Bordetella* spp., *Candida* spp., *Chlamydomyces pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterovirus*, HSV 1, 2, а также ДНК человека в концентрации до $1,0 \times 10^8$ копий/мл образца.

¹ – внутренний контрольный образец РНК-БК

Выявлены специфические результаты амплификации при наличии в образце НК выявляемых аналитов: коронавирус SARS-CoV-2 (исследуемых в рамках международной системы QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics), Великобритания), вирус гриппа В, вирус гриппа А разных субтипов (включая (H1N1)pdm09, H3N2), респираторно-синцитиальный вирус, вирусы парагриппа 1–4 типов, риновирус, аденовирус, метапневмовирус, коронавирусы HKU1, NL63, OC43, 229E, бокавирус.

3.2 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ОТ-ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (недостоверных) результатов. Признаком ингибирования ОТ-ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфических продуктов.

К интерферирующим веществам, ингибирующим ОТ-ПЦР, отнесены:

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

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

Для оценки возможной интерференции лекарственных препаратов были выбраны те, которые потенциально могут присутствовать в остаточных количествах в биологических образцах человека, взятых из соответствующих исследуемых биотопов (хлоргексидин биглюконат, Лазолван® РИНО, РИНОФЛУИМУЦИЛ®, Тизин® Классик, Спрей Тантум® Верде, Гексорал® Раствор, Беродуал®, Сальбутамол-Тева, Гриппферон® Капли назальные).

Для всех исследуемых лекарственных препаратов было показано отсутствие их влияния в концентрации до 10% в образце биоматериала.

3.3 Предел обнаружения

Предел обнаружения НК в образце биоматериала зависит от метода предобработки образца биоматериала.

Предел обнаружения НК микроорганизмов, выявляемых с помощью набора реагентов ОРВИ Комплекс, установлен путем анализа серийных разведений лабораторных контрольных образцов (ЛКО).

Минимальное количество биоматериала, из которого могут быть выделены НК: 100 мкл.

3.3.1 Фасовка S

Предел обнаружения для показателей Influenza A virus, Influenza B virus, Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N: 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку и 20 копий – для остальных вирусов.

Предел обнаружения соответствует следующим значениям концентрации НК в образце при использовании указанных наборов/комплектов для выделения нуклеиновых кислот при конечном объеме препарата НК, равном 100 мкл:

Биоматериал	Наименование набора/комплекта для выделения НК	Influenza A virus, Influenza B virus, Коронавирус SARS-CoV-2	Human parainfluenza virus type 1–4, Human coronavirus 229E, OC43, HKU1, NL63, Human respiratory syncytial virus, Human metapneumovirus, Human rhinovirus, Human adenovirus, Human bocavirus
Мазок из носоглотки, ротоглотки в 500 мкл транспортной среды ¹	ПРОБА-НК	2,0x10 ³ коп/мл образца	4,0x10 ³ коп/мл образца
	ПРОБА-НК ПЛЮС	2,0x10 ³ коп/мл образца	4,0x10 ³ коп/мл образца
	ПРОБА-НК-S	4,0x10 ³ коп/мл образца	8,0x10 ³ коп/мл образца
	ПРОБА-МЧ-НК-S	4,0x10 ³ коп/мл образца	8,0x10 ³ коп/мл образца
	ПРОБА-МЧ DWP	4,0x10 ³ коп/мл образца	8,0x10 ³ коп/мл образца
	ПРОБА-МЧ-РАПИД II	4,0x10 ³ коп/мл образца	8,0x10 ³ коп/мл образца
Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират	ПРОБА-НК	2,0x10 ³ коп/мл образца	4,0x10 ³ коп/мл образца
	ПРОБА-НК ПЛЮС	2,0x10 ³ коп/мл образца	4,0x10 ³ коп/мл образца
Мокрота	ПРОБА-НК	1,0x10 ⁴ коп/мл образца	2,0x10 ⁴ коп/мл образца
	ПРОБА-НК ПЛЮС	1,0x10 ⁴ коп/мл образца	2,0x10 ⁴ коп/мл образца

3.3.2 Фасовка А (при использовании интегрального способа постановки)

Предел обнаружения для показателей Influenza A virus, Коронавирус SARS-CoV-2, Human parainfluenza virus type 1, 2, Human coronavirus, HKU1, NL63, Human respiratory syncytial virus, Human rhinovirus, Human adenovirus, Human bocavirus: 10 копий нуклеиновой кислоты на амплификационную пробирку и 40 копий – для остальных вирусов.

Предел обнаружения соответствует следующим значениям концентрации НК в образце при использовании указанных наборов/комплектов для выделения нуклеиновых кислот при конечном объеме препарата НК, равном 100 мкл:

Биоматериал	Наименование набора/комплекта для выделения НК	Influenza A virus, Коронавирус SARS-CoV-2, Human parainfluenza virus type 1, 2, Human coronavirus HKU1, NL63, Human respiratory syncytial virus, Human rhinovirus, Human adenovirus, Human bocavirus	Influenza B virus, Human parainfluenza virus type 3,4, Human coronavirus 229E, OC43, Human metapneumovirus
Мазок из носоглотки, ротоглотки в 500 мкл транспортной среды ¹	ПРОБА-НК ПЛЮС	5,0x10 ³ коп/мл образца	2,0x10 ⁴ коп/мл образца
	ПРОБА-МЧ-НК-S	1,0x10 ⁴ коп/мл образца	4,0x10 ⁴ коп/мл образца
	ПРОБА-МЧ DWP	1,0x10 ⁴ коп/мл образца	4,0x10 ⁴ коп/мл образца
	ПРОБА-МЧ-РАПИД II	1,0x10 ⁴ коп/мл образца	4,0x10 ⁴ коп/мл образца
Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират	ПРОБА-НК ПЛЮС	5,0x10 ³ коп/мл образца	2,0x10 ⁴ коп/мл образца

Примечание – Комплект реагентов ПРОБА-НК и набор реагентов ПРОБА-НК-S не применяются для выделения нуклеиновых кислот, если предполагается проведение ОТ-ПЦР с использованием интегрального способа постановки набора реагентов ОРВИ Комплекс в фасовке А. При использовании базового способа постановки набора реагентов ОРВИ Комплекс в фасовке А возможно применение ПРОБА-НК и ПРОБА-НК-S при конечном объеме препарата НК, равном 50 мкл, при этом чувствительность методики увеличится приблизительно в 2 раза.

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

3.4 Диагностические характеристики

При проведении клинико-лабораторных испытаний набора реагентов ОРВИ Комплекс получены следующие диагностические характеристики (диагностическая чувствительность и специфичность были рассчитаны по совокупности полученных истинных результатов среди всех 16 показателей, выявляемых набором реагентов):

Вид биоматериала	Количество образцов, шт.	Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
Мазок из носоглотки, ротоглотки	82	100% (95,32 – 100)	100% (99,70 – 100)
Бронхоальвеолярный лаваж	29	100% (87,23 – 100)	100% (99,16 – 100)
Эндотрахеальный аспират	18	100% (79,41 – 100)	100% (98,65 – 100)
Назофарингеальный аспират	21	100% (85,18 – 100)	100% (98,83 – 100)
Мокрота	76	100% (95,26 – 100)	100% (99,68 – 100)
Итого	226	100% (98,31 – 100)	100% (99,89 – 100)

3.5 Внутри- и межсерийная воспроизводимость

Оценка внутрисерийной и межсерийной воспроизводимости набора реагентов проведена путём сравнения результатов, полученных при исследовании одних и тех же 25 образцов биоматериала.

Внутрисерийная воспроизводимость составляет 100% (95% доверительный интервал 92,45–100%).

Межсерийная воспроизводимость составляет 100% (95% доверительный интервал 92,45–100%).

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению РНК SARS-CoV-2 обязаны обеспечивать безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия. Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15190-2023, методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

К работе с набором реагентов допускается 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.

Все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфицированными, и при работе с ними должны учитываться требования СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки без талька.

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

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

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

Каждый этап анализа должен проводиться в самостоятельных рабочих зонах (помещениях). Выделение НК следует проводить в боксах биологической безопасности II класса с включенным ламинарным потоком.

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

Дозаторы, используемые при работе с набором реагентов, должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

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

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

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

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

При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями санитарных правил и норм СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

При работе с набором реагентов следует использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками.

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

Не использовать набор реагентов:

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

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

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасного компонента		Указание на риски
	Фасовка S	Фасовка A	
Смеси для амплификации, запечатанные парафином	Азид натрия менее 0,1%	–	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
ОТ-ПЦР-буфер	Азид натрия менее 0,1%	–	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Буфер для растворения	Нет опасных веществ	–	–
Смеси для амплификации Стрим	–	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
ОТ-ПЦР-буфер Стрим	–	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Буфер для разведения НК	–	Нет опасных веществ	–
Фермент Taq/RT	Нет опасных веществ	Нет опасных веществ	–
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	Азид натрия менее 0,1%	–	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Внутренний контрольный образец РНК-ВК	–	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Положительный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

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

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S	Фасовка A
ПЦР-бокс	да	да
амплификатор с детекцией в режиме реального времени ¹	да	да ²
микроцентрифуга-вортекс	да	да
ротор для микроцентрифуги-вортекса для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл	да	да
холодильник или холодильная камера	да	да
морозильная камера	да	да
штатив «рабочее место» для стрипованных пробирок объемом 0,2 мл	да	нет
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл	да	да
дозаторы механические или электронные одноканальные переменного объема, позволяющие отбирать объем жидкости от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл	да	да
наконечники одноразовые с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 10 мкл, 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл	да	да
штатив для дозаторов	да	да
пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз	да	нет
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да
Устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в варианте исполнения *М4, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982, далее по тексту – ДТстрим	нет	да
одноразовые наконечники с фильтром для дозирующего устройства ДТстрим, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 200 мкл или рекомендованные для аналогичного используемого дозирующего устройства	нет	да
Устройство для запечатывания планшетов ДТпак, ООО «НПО ДНК-Технология»	нет	да
центрифуга с адаптером для микропланшетов, с RCF(g) не ниже 100	нет	да
полимерная термоплёнка для запечатывания микропланшетов ПЦР	нет	да
микропланшет ПЦР 384 лунки	нет	да
транспортная среда (при необходимости), рекомендуется использовать Транспортную среду для биопроб STOP-Ф по ТУ 21.20.23-101-46482062-2019, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640		
физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный (при необходимости)		
набор/комплект реагентов для выделения НК из биологического материала ³ , рекомендуются: <ul style="list-style-type: none"> – Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009 в формах комплектации: комплект ПРОБА-НК⁴, комплект ПРОБА-НК-ПЛЮС, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № ФСР 2010/08867; – Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК-S) по ТУ 21.20.23.117-117-46482062-2020, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/11296; – Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ-НК-S) по ТУ 21.20.23-118-46482062-2020, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15267; – Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ DWP) по ТУ 21.20.23-062-46482062-2020, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/15090; 		

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Фасовка S	Фасовка A
– Набор реагентов для выделения ДНК/РНК человека, бактерий, вирусов и грибов из биологического материала человека (ПРОБА-МЧ-РАПИД II) по ТУ 21.20.23-136-46482062-2023, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2024/23205.		
<p>Примечания к таблице:</p> <p>¹ – далее по тексту – детектирующий амплификатор; требуемые параметры детектирующих амплификаторов указаны ниже</p> <p>² – валидирован детектирующий амплификатор «ДТпрайм» (модификация ДТпрайм *X*), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229</p> <p>³ – возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения НК определяется видом биологического материала (7.1)</p> <p>⁴ – не применяется для фасовки А при интегральном способе постановки</p>		

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

- обеспечивается работа с объёмом реакционной смеси 40 мкл (фасовка S) или 12 мкл (фасовка A);
- обеспечивается работа с флуорофорами: Fam, Hex, Rox, Cy5;
- подогреваемая крышка с температурой более 100 °С;
- скорость нагрева не менее 2 °С/с;
- скорость охлаждения не менее 1 °С/с;
- точность поддержания и однородность температуры не более $\pm 0,4$ °С.

Для работы с набором реагентов валидированы следующие детектирующие амплификаторы:

- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм *M*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ №ФСР 2011/10229, далее по тексту – «ДТпрайм»;
- Амплификатор детектирующий «ДТпрайм» по ТУ 9443-004-96301278-2010 (модификация «ДТпрайм *X*») ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10229 (только для набора реагентов в фасовке А), далее по тексту – «ДТпрайм» в модификации «ДТпрайм *X*»;
- Амплификатор детектирующий «ДТлайт» по ТУ 9443-003-96301278-2010 (модификация «ДТлайт *S*»), ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № ФСР 2011/10228, далее по тексту – «ДТлайт»;
- Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000 с модулем реакционным оптическим CFX96 (Optical Reaction Module CFX96), Био-Рад Лабораториз, Инк; США, РУ № ФСЗ 2008/03399, далее по тексту – CFX96.

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

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

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

6.2 Общие требования

6.2.1 Исследование методом ОТ-ПЦР относится к прямым методам лабораторного исследования, поэтому взятие биологического материала человека необходимо проводить из места локализации инфекционного процесса. Решение о необходимости исследовать ту или иную локализацию принимает лечащий врач на основании собранного анамнеза и клинической картины заболевания.

6.2.2 Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортирование и предварительная обработка. Неправильное взятие биоматериала может привести к получению недостоверных результатов и, вследствие этого, необходимости его повторного взятия.

6.2.3 При необходимости взятия мазков из нескольких биотопов повторите процедуру, каждый раз забирая материал новым зондом в новую пробирку.

6.2.4 На этапах подготовки биоматериала и выделении из него нуклеиновых кислот используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

6.2.5 Для предотвращения контаминации всегда открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить биологический материал, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой.

Примечание – Взятие, предварительную обработку, хранение и перевозку, передачу исследуемого материала в другие организации осуществляют согласно инструктивно-методическим документам, регламентирующим выполнение исследований в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09, СанПин 3.3686-21.

6.3 Взятие материала на исследование

ВНИМАНИЕ! Перед выделением НК может потребоваться подготовка образцов биологического материала (6.5).

Ограничение метода¹: местное применение лекарственных препаратов (спреи, капли, кремы и мази) – менее чем за 24 часа до исследования. При использовании аэрозолей и других форм лекарственных препаратов для ингаляций при лечении бронхиальной астмы, материал для исследований следует брать не ранее чем через три часа после ингаляции или приёма пищи.

¹ – если это не противоречит требованиям к используемым наборам/комплектам реагентов для выделения НК

6.3.1 Мазки из носоглотки

Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения, согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре (например, Зонд медицинский одноразовый стерильный, РУ № РЗН 2021/13989).

Мазки берут сухим стерильным зондом, для чего зонд вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2–3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают к низу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа.

После взятия биологического материала перенесите зонд в пробирку с транспортной средой и тщательно промойте его в жидкости в течение 10–15 с, избегая её разбрызгивания.

Затем извлеките зонд из раствора и, вращательным движением, прижимая его к внутренней стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки и утилизируйте.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

6.3.2 Мазки из ротоглотки

Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения, согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре (например, Зонд медицинский одноразовый стерильный, РУ № РЗН 2021/13989).

Мазки берут сухим стерильным зондом, вращательным движением с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки глотки.

После взятия биологического материала перенесите зонд в пробирку с транспортной средой и тщательно промойте его в жидкости в течение 10–15 с, избегая её разбрызгивания.

Затем извлеките зонд из раствора и, вращательным движением, прижимая его к внутренней стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости.

Полностью удалите зонд из пробирки и утилизируйте.

Плотно закройте крышку пробирки и промаркируйте пробирку.

6.3.3 Мокрота

Взятие материала осуществляют в одноразовые градуированные стерильные флаконы с широким горлом и завинчивающимися крышками объёмом не менее 50 мл в количестве не менее 1,0 мл.

После сбора материала флакон плотно закрывают и маркируют.

6.3.4 Бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный, назофарингеальный аспират

Взятие материала производится в одноразовые плотно завинчивающиеся пробирки объёмом до 50 мл. После взятия материала пробирку плотно закрывают и маркируют.

6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала

Транспортирование и хранение исследуемого материала, в соответствии с МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» от 30.04.2020.

Тип образца	Требования к сбору материала	Транспортирование	Условия хранения до транспортирования	Комментарии
Мазок из носоглотки и ротоглотки	Пластиковые пробирки и тампоны для мазков**	4 °С	≤5 дней: 4 °С >5 дней*: минус 70 °С	Носоглоточные и орофарингеальные тампоны должны быть помещены в одну пробирку для увеличения вирусной нагрузки
Бронхоальвеолярный лаваж	Стерильный контейнер	4 °С	≤48 часов: 4 °С >48 часов*: минус 70 °С	Возможно небольшое разведение образца
Эндотрахеальный аспират, аспират носоглотки или смыв из носа	Стерильный контейнер	4 °С	≤48 часов: 4 °С >48 часов*: минус 70 °С	
Мокрота	Стерильный контейнер	4 °С	≤48 часов: 4 °С >48 часов*: минус 70 °С	Убедитесь, что материал поступает из нижних дыхательных путей
<p>* – при невозможности обеспечить хранение при минус 70 °С, образцы следует хранить при минус 20 °С</p> <p>** – для транспортировки образцов используют транспортную среду для хранения и транспортировки респираторных мазков или физиологический раствор (при условии транспортировки до лаборатории не более 24 часов после взятия образца) или сухой зонд-тампон (при условии транспортировки до лаборатории не более 4 часов после взятия образца)</p>				

Примечание – Рекомендуется использовать транспортную среду СТОР-Ф (ООО «ДНК-Технология ТС»).

ВНИМАНИЕ! Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

6.5 Подготовка биологического материала для выделения НК

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

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

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

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

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

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

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

7.1 Выделение нуклеиновых кислот из биологического материала

Для выделения нуклеиновых кислот из мазков из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярного лаважа, эндотрахеального, назофарингеального аспирата, мокроты рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов, имеющие регистрационные удостоверения на медицинское изделие и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего анализа нуклеиновых кислот методом ПЦР/ОТ-ПЦР, например, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-НК-S, ПРОБА-МЧ-НК-S, ПРОБА-МЧ DWP, ПРОБА-МЧ-РАПИД II (таблица 3).

Для выделения используется **100 мкл образца**.

ВНИМАНИЕ!

1. Комплект реагентов ПРОБА-НК и набор реагентов ПРОБА-НК-S не применяются для выделения нуклеиновых кислот, если предполагается проведение ОТ-ПЦР с использованием интегрального способа постановки набора реагентов ОРВИ Комплекс в фасовке А.

2. Объем полученного препарата нуклеиновых кислот должен составлять 100 мкл. Дальнейшее увеличение объема полученного препарата нуклеиновых кислот приводит к пропорциональному снижению концентрации НК и уменьшению чувствительности анализа.

В случае если объем препарата НК менее 100 мкл, следует перед проведением ОТ-ПЦР довести объем до необходимого, используя буфер для растворения из набора ОРВИ Комплекс.

3. Полученный препарат нуклеиновых кислот необходимо в течение двух часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции. Допускается однократное замораживание и хранение препарата нуклеиновых кислот при температуре не выше минус 18 °С не более 7 суток.

Таблица 3 – Наборы/комплекты реагентов, валидированные для выделения нуклеиновых кислот для дальнейшего исследования с использованием набора реагентов ОРВИ Комплекс

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

Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот

Внутренний контрольный образец

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

При проведении пробоподготовки в качестве внутреннего контрольного образца необходимо использовать **внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" из набора реагентов ОРВИ Комплекс в фасовке S** или **внутренний контрольный образец РНК-ВК из набора реагентов ОРВИ Комплекс в фасовке А**.

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

Отрицательный контрольный образец

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

На этапе выделения нуклеиновых кислот обязательно использовать **отрицательный контрольный образец**, который необходимо провести через все этапы выделения одновременно с выделением нуклеиновых кислот из биологических образцов.

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

7.2 Подготовка и проведение ОТ-ПЦР. Фасовка S

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесями для амплификации.
2. Следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

7.2.1 Промаркируйте по одному стрипу со смесями для амплификации, запечатанными парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (K-) и для положительного контрольного образца (K+).

Примечание – Один стрип рассчитан на исследование одного образца.

Пример:

Необходимо проанализировать 6 неизвестных образцов. Нужно промаркировать 6 стрипов для неизвестных образцов; один стрип для «K-» и один стрип для «K+». Общее количество стрипов – 8.

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

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

7.2.3 Приготовьте смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT.

Смешайте в отдельной пробирке:

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

где N – количество пробирок в промаркированных стрипах с учетом «K-» и «K+».

Пример:

Необходимо проанализировать 6 неизвестных образцов. Промаркированных стрипов (по 8 пробирок) – 8. Нужно приготовить смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT для 65 (64+1) пробирок, т.е. 975 мкл ОТ-ПЦР-буфера + 32,5 мкл фермента Taq/RT.

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

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

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

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

ВНИМАНИЕ! После добавления смеси ОТ-ПЦР-буфера и фермента Taq/RT в пробирки со смесью для амплификации необходимо в течение часа выполнить 7.2.6 – 7.2.11.

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

ВНИМАНИЕ!

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

2. При использовании для выделения НК наборов/комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС и ПРОБА-НК-S необходимо встряхнуть пробирки с препаратом НК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

3. При использовании для выделения НК набора реагентов ПРОБА-МЧ DWP следует центрифугировать заклеенный плёнкой глубоколуночный планшет с препаратом НК и отрицательным контрольным образцом при RCF(g) 100 в течение 30 с для осаждения конденсата и снять плёнку.

4. Для предотвращения контаминации следует перед внесением НК открывать крышку только того стрипа, в который будет вноситься данный образец, и закрывать его перед внесением следующего. Необходимо закрывать стрипы плотно. Препараты НК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

7.2.7 Внесите в каждую пробирку соответствующих промаркированных стрипов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл выделенного из образцов препарата НК. В стрипы, промаркированные «К–» и «К+», НК не вносится.

7.2.8 Внесите в каждую пробирку стрипа, промаркированного «К–», не повреждая слой парафина, по 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения НК (см. 7.1).

7.2.9 Внесите в каждую пробирку стрипа, промаркированного «К+», не повреждая слой парафина, по 10 мкл положительного контрольного образца.

7.2.10 Центрифугируйте стрипы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.2.11 Установите все стрипы в детектирующий амплификатор.

7.2.12 Для детектирующих амплификаторов серии ДТ:

Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ОТ-ПЦР загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.2.11) и проведите ОТ-ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 4.

7.2.13 Для детектирующего амплификатора CFX96:

Проведите ОТ-ПЦР с учетом объёма реакционной смеси, равного 40 мкл, по программе амплификации, приведённой в таблице 5.

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт» (фасовка S)

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

√ – режим оптических измерений

Таблица 5 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96 (фасовка S)

№ блока (Step)	Температура, °C	Время, мин: сек	Количество циклов (повторов)
1	35	20:00	1
2	95	5:00	1
3	94	0:15	50
4	64 √	0:20	

√ – режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по каналам детекции (Fam, Hex, Rox, Cy5) при 64 °C

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

² – допускается хранение при температуре 10 °C

7.3 Подготовка и проведение ОТ-ПЦР. Фасовка А, с использованием дозирующего устройства ДТстрим (только для детектирующего амплификатора «ДТпрайм» в модификации «ДТпрайм *Х*»)

ВНИМАНИЕ!

1. Для амплификации следует использовать микропланшеты ПЦР 384 лунки, герметизируемые термоплёнкой.
2. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирки со смесью для амплификации!

7.3.1 Встряхните пробирки с ОТ-ПЦР-буфером Стрим и ферментом Taq/RT на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с. Для проведения 48 определений одновременно используются две пробирки с ОТ-ПЦР-буфером Стрим и две пробирки с ферментом Taq/RT. Для проведения 24 определений используются одна пробирка с ОТ-ПЦР-буфером Стрим и одна пробирка с ферментом Taq/RT.

ВНИМАНИЕ!

1. Фермент Taq/RT необходимо доставать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.
2. Для базового способа постановки требуется предварительная подготовка образцов НК и контрольных образцов (7.3.2, 7.3.7).

7.3.2 При использовании базового способа постановки:

Подготовьте раствор фермента Taq/RT и анализируемые образцы НК согласно руководству по эксплуатации ДТстрим.

7.3.3 При использовании интегрального способа постановки:

Предварительной подготовки фермента Taq/RT и анализируемых образцов не требуется.

7.3.4 Центрифугируйте стрипы со смесями для амплификации Стрим на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.5 При использовании базового способа постановки:

Установите стрипы со смесями для амплификации Стрим, ориентируясь на цветовую маркировку смеси (первая пробирка отмечена голубым буфером), пробирки с подготовленным раствором фермента Taq/RT, а также микропланшет ПЦР на рабочий стол ДТстрим.

7.3.6 При использовании интегрального способа постановки:

Установите стрипы со смесями для амплификации Стрим, ориентируясь на цветовую маркировку смеси (первая пробирка отмечена голубым буфером), пробирки с ОТ-ПЦР-буфером Стрим, ферментом Taq/RT, буфером для разведения НК, а также микропланшет ПЦР на рабочий стол ДТстрим.

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

ВНИМАНИЕ!

1. Перед проведением подготовки (при необходимости) и дозирования для препарата НК и отрицательного контрольного образца необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата НК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения НК наборов/комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС и ПРОБА-НК-S необходимо встряхнуть пробирки с препаратом НК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

3. При использовании для выделения НК набора реагентов ПРОБА-МЧ DWP следует центрифугировать заклеенный плёнкой глубоколуночный планшет с препаратом НК и отрицательным контрольным образцом при RCF(g) 100 в течение 30 с для осаждения конденсата и снять плёнку.

7.3.8 Установите неизвестные образцы НК, отрицательный контрольный образец и положительный контрольный образец на рабочий стол ДТстрим.

7.3.9 Откройте стрипы со смесями для амплификации Стрим, аккуратно сняв защитную фольгу, и проведите дозирование компонентов согласно руководству по эксплуатации.

7.3.10 Поместите аккуратно, не встряхивая, микропланшет ПЦР в подложку устройства для запечатывания планшетов ДТпак после завершения программы на дозирующем устройстве ДТстрим.

7.3.11 Проведите запечатывание микропланшета ПЦР термоплёнкой согласно руководству по эксплуатации прибора ДТпак.

7.3.12 Центрифугируйте микропланшет ПЦР при RCF(g) 100 в течение 30 с.

7.3.13 Поместите микропланшет ПЦР в блок детектирующего амплификатора.

7.3.14 Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ОТ-ПЦР загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение образцов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 7.3.13) и проведите ОТ-ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 6.

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

Таблица 6 – Программа амплификации для детектирующего амплификатора «ДТпрайм» (фасовка А)

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	47	20	0	1		Цикл
2	92	0	30	1		Цикл
3	92	0	10	50		Цикл
	64	0	20		√	
4	80	0	1	1		Цикл
5	25 ¹	Хранение		Хранение

√ – режим оптических измерений

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

Регистрация сигнала флуоресценции проводится детектирующим амплификатором автоматически во время амплификации.

9 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1 Учет результатов амплификации осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

9.2 При использовании детектирующих амплификаторов CFX96 следует использовать регрессионный тип анализа (Cq Determination Mode: Regression), во вкладке «Baseline Subtraction» необходимо выбрать «Baseline Subtraction Curve Fit».

9.3 Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицами 7, 8. Необходимо учитывать возможность присутствия в образце нуклеиновых кислот нескольких вирусов-возбудителей ОРВИ, в том числе выявляемых в одной амплификационной пробирке.

Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

¹ – допускается хранение при температуре 10 °С

Таблица 7 – Интерпретация результатов ОТ-ПЦР (Фасовка S)

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam, Cp/Cq	Hex, Cp/Cq	Rox, Cp/Cq	Cy5, Cp/Cq	
Пробирка №1 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Influenza A virus
Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Influenza B virus
Пробирка №2 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 2
Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 4
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human coronavirus 229E
Пробирка №3 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК Human bocavirus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human rhinovirus
Пробирка №4 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human respiratory syncytial virus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human coronavirus HKU1
Пробирка №5 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК Human adenovirus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human coronavirus NL63
Пробирка №6 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human coronavirus OC43
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 3
Пробирка №7 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 1
Пробирка №8 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human metapneumovirus
Для всех пробирок				
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не обнаружены нуклеиновые кислоты определяемых вирусов
Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Недоверенный результат
Отрицательный контрольный образец				
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец				
Указан (в пробирках № 1–8)	Не учитывается	Указан (в пробирках № 1–2)	Указан (в пробирках № 1–6)	Положительный результат Результаты постановки валидны

Таблица 8 – Интерпретация результатов ОТ-ПЦР (Фасовка А)

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam, Cp	Hex, Cp	Rox, Cp	Cy5, Cp	
Пробирка №1 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Influenza A virus
Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2
Пробирка №2 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 2
Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 4
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human coronavirus 229E
Пробирка №3 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК Human bocavirus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human rhinovirus
Пробирка №4 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human respiratory syncytial virus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human coronavirus HKU1
Пробирка №5 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена ДНК Human adenovirus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human coronavirus NL63
Пробирка №6 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human coronavirus OC43
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 3
Пробирка №7 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human parainfluenza virus type 1
Пробирка №8 стрипа				
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК Human metapneumovirus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Influenza B virus
Для всех пробирок				
Не указан	Указан в пробирке 8	Не указан	Не указан	Не обнаружены нуклеиновые кислоты определяемых вирусов
Не указан	Не указан в пробирке 8	Не указан	Не указан	Недостовверный результат
Отрицательный контрольный образец				
Не указан	Указан в пробирке 8	Не указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец				
Указан (в пробирках № 1–8)	Не учитывается	Указан (в пробирках № 1–2)	Указан (в пробирках № 2–6, 8)	Положительный результат Результаты постановки валидны

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

9.5 Если для биологического образца получены значения C_p/C_q менее 25 на каналах детекции Fam , Rox или $Cy5$, то это говорит о высокой первоначальной концентрации НК соответствующего возбудителя. В данном случае возможно получение ложноотрицательного результата при микст-инфицировании для возбудителя, НК которого присутствует в низкой концентрации.

Для исключения ложноотрицательных результатов рекомендуется повторно провести ОТ-ПЦР для выделенного препарата НК с использованием набора реагентов для индивидуального выявления соответствующего вируса или провести повторное взятие биологического материала для исследования инфекционного процесса в динамике.

9.6 При получении положительного результата для отрицательного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

9.7 При получении отрицательного результата для положительного контрольного образца результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

Предупреждения

Единичный отрицательный результат исследования не исключает наличие инфекционного процесса.

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

Вопрос микст-инфицирования изучен не для всех выявляемых вирусов. Например, по литературным данным, совместное инфицирование вирусов Influenza (A или B) и SARS-CoV-2 может встречаться в 0,5–5% случаев, увеличиваясь с возрастом пациентов.

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

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

10.2 Хранение

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

10.3 Указания по эксплуатации

- 10.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.
- 10.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.
- 10.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:
- все компоненты набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
 - смеси для амплификации, запечатанные парафином, и смеси для амплификации Стрим следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора реагентов;
 - фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 10.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

11.1 При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

11.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

12.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

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

13 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

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

14 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

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

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

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

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

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

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

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

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

ГОСТ Р ИСО 15190-2023 Лаборатории медицинские. Требования безопасности

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

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального использования

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

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований, Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документом, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.

16 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

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

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

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

Место производства:

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

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

Служба клиентской поддержки:

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

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

E-mail: hotline@dna-technology.ru

www.dna-technology.ru

Приложение А

**Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение
детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»
при использовании набора реагентов ОРВИ Комплекс
в фасовке S**

- 1) «Метод анализа» – «Геометрический (Ср)»;
- 2) Объем реакционной смеси – 40 мкл;
- 3) В окне «Программа амплификации» ввести следующие параметры:

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

√ – режим оптических измерений

- 4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Номер пробирки в стрипе	Канал детекции, выявляемый показатель			
	Fam	Hex	Rox	Cy5
1	Influenza A virus	BK	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	Influenza B virus
2	Human parainfluenza virus type 2	BK	Human parainfluenza virus type 4	Human coronavirus 229E
3	Human bocavirus	BK	Маркер	Human rhinovirus
4	Human respiratory syncytial virus	BK	–	Human coronavirus HKU1
5	Human adenovirus	BK	–	Human coronavirus NL63
6	Human coronavirus OC43	BK	–	Human parainfluenza virus type 3
7	Human parainfluenza virus type 1	BK	–	–
8	Human metapneumovirus	BK	–	–

¹ – допускается хранение при температуре 10 °С

Приложение Б

**Параметры теста, которые необходимо внести в программное обеспечение
детектирующих амплификаторов «ДТпрайм»
при использовании набора реагентов ОРВИ Комплекс
в фасовке А**

- 1) «Метод анализа» – «Геометрический (Ср)»;
- 2) Объем реакционной смеси – 12 мкл;
- 3) В окне «Программа амплификации» ввести следующие параметры:

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	47	20	0	1		Цикл
2	92	0	30	1		Цикл
3	92	0	10	50		Цикл
	64	0	20		√	
4	80	0	1	1		Цикл
5	25 ¹	Хранение		Хранение

√ – режим оптических измерений

- 4) Внести следующие параметры каналов детекции:

Номер пробирки в стрипе	Канал детекции, выявляемый показатель			
	Fam	Hex	Rox	Cy5
1	Influenza A virus	-	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	-
2	Human parainfluenza virus type 2	-	Human parainfluenza virus type 4	Human coronavirus 229E
3	Human bocavirus	-	Маркер	Human rhinovirus
4	Human respiratory syncytial virus	-	-	Human coronavirus HKU1
5	Human adenovirus	-	-	Human coronavirus NL63
6	Human coronavirus OC43	-	-	Human parainfluenza virus type 3
7	Human parainfluenza virus type 1	-	-	-
8	Human metapneumovirus	BK	-	Influenza B virus

¹ – допускается хранение при температуре 10 °С

Приложение В

**Сокращённая методика выделения РНК/ДНК
из исследуемого материала (мазок из носоглотки, ротоглотки)
с использованием комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС**

ВНИМАНИЕ!

1. Перед началом работы необходимо:
 - включить термостат для прогрева до 65 °С;
 - достать из холодильника комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот и проконтролировать отсутствие осадка в лизирующем растворе. В случае выпадения осадка необходимо прогреть флакон с лизирующим раствором на термостате, предварительно прогревом до 65 °С, до полного растворения осадка. Затем следует перемешать раствор переворачиванием флакона вверх дном 5–10 раз, избегая пенообразования. Перед использованием охладите раствор до комнатной температуры (от 18 °С до 25 °С). Осадок также можно растворить при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение приблизительно 12 часов.
 2. При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Следует использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.», производства ООО «НПО ДНК-Технология»).
1. Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объёмом 1,5 мл с учетом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).
 2. Внесите в каждую пробирку по 10 мкл предварительно перемешанного на микроцентрифуге-вортексе внутреннего контрольного образца РНК-ВК "А" из набора реагентов ОРВИ Комплекс в фасовке S или РНК-ВК из набора реагентов ОРВИ Комплекс в фасовке А.
 3. Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки.
 4. Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 100 мкл исследуемого материала. В пробирку, промаркированную «К-», биоматериал не вносится.
 5. Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 100 мкл отрицательного контрольного образца.
 6. Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 7. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин.
 8. Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 9. Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 10. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 – 16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 10 мин.

11. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
12. Добавьте к осадку по 500 мкл промывочного раствора №1, закройте пробирки и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.
13. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 – 16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 1 мин.
14. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
15. Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, закройте пробирки и перемешайте, 3–5 раз аккуратно перевернув пробирки.
16. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 – 16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 1 мин.
17. Не задевая осадок, удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки). Допускается оставить жидкость, покрывающую осадок, объемом не более 20–30 мкл.
18. Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
19. Добавьте к осадку 100 мкл буфера для растворения, встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и осадите капли центрифугированием пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
20. Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
21. Осадите конденсат центрифугированием при RCF(g) 12000 – 16000 при температуре от 18 °С до 25 °С в течение 30 с.

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

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

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

ВНИМАНИЕ! Для препарата НК допускается только однократное размораживание!

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