



Регистрационное удостоверение  
№ РЗН 2020/9948 от 01 апреля 2020 года

**В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV.**

Изучите полную инструкцию № 616-1 от 2020-05-28 перед началом работы. Ознакомьтесь с текстом инструкции № 616-1 от 2020-05-28 по применению набора реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV на интернет-сайте компании «ДНК-Технология» по адресу: <http://www.dna-technology.ru/dnaproducts/reagents/med/> или обратитесь за ней к представителю компании.



**Набор реагентов  
для выявления РНК коронавирусов SARS-CoV-2 и подобных  
SARS-CoV методом обратной транскрипции и полимеразной  
цепной реакции в режиме реального времени  
(SARS-CoV-2/SARS-CoV)**



**R3-P436-S3/9 (стрипы)  
R3-P436-23/9 (пробирки)**

**Информация о наборе**

**Назначение:**

Набор реагентов предназначен для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, вызывающего коронавирусную инфекцию COVID-19, 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.

**Специализированное оборудование:**

Амплификаторы детектирующие ДТлайт<sup>1</sup>, ДТпрайм<sup>2</sup> или ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»), версия программного обеспечения не ниже 7.9 сборка 5.36<sup>3</sup>; CFX96 (Bio-Rad) или Rotor-Gene Q (QiaGen).

**Время проведения анализа (с учётом пробоподготовки):** от 2,5 часов.

**Количество исследуемых образцов:**

96 (включая один положительный и один отрицательный контрольный образец в каждой постановке).

**Состав набора:**

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	96 пробирок или 12 стрипов по 8 пробирок	по 15 мкл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 810 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Внутренний контрольный образец (РНК-ВК)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов <sup>4</sup>		12 шт.	

Т а б л и ц а 1 - Каналы детекции продуктов амплификации

Fam/Green	Hex/Yellow	Rox/Orange	Cy5/Red
Коронавирусы подобные SARS-CoV	ВК*	Коронавирус SARS-CoV-2, ген E	Коронавирус SARS-CoV-2, ген N

\* Внутренний контрольный образец РНК-ВК

<sup>1</sup> – только модели 4S1, 4S2, 5S1, 5S2, 6S1, 6S2

<sup>2</sup> – только модели 4M1; 4M3; 4M6; 5M1; 5M3; 5M6; 6M1; 6M3; 6M6

<sup>3</sup> – по мере обновления программного обеспечения рекомендуемая версия ПО может измениться. Актуальную версию ПО можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»:

<https://www.dna-technology.ru/poequip/po-dlya-oborudovaniya>

<sup>4</sup> – входят в состав набора реагентов при расфасовке смеси для амплификации в стрипы.

## Проведение анализа

### 1 Выделение РНК

Для выделения РНК из мазков из носоглотки, ротоглотки, бронхоальвеолярного лаважа, эндотрахеального, назофарингеального аспирата, мокроты используют комплекты/наборы для выделения РНК, зарегистрированные в РФ в установленном порядке. Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплексу/набору реагентов.

Таблица 2 – Комплекты/наборы реагентов, валидированные для выделения РНК коронавируса SARS-CoV-2

Биоматериал	ПРОБА-НК (ООО «НПО ДНК- Технология»)	ПРОБА-НК (укороченная методика) <sup>5</sup> (ООО «НПО ДНК- Технология»)	ПРОБА-МЧ- НК (фасовка А) (ООО «НПО ДНК- Технология»)	РИБО-преп (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора)
<b>мазки из носоглотки, ротоглотки</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>	<b>+</b>
бронхоальвеолярный лаваж	+	-	-	+
эндотрахеальный, назофарингеальный аспират	+	-	-	+
мокрота	+	-	-	+

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

Для выделения используется **100 мкл образца.**

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

**Внутренний контрольный образец.** В качестве внутреннего контрольного образца при выделении РНК использовать внутренний контрольный образец (РНК-ВК) из набора реагентов SARS-CoV-2/SARS-CoV.

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

**ВНИМАНИЕ!** Одновременно с выделением РНК из биологического материала необходимо провести через все этапы пробоподготовки **отрицательный контрольный образец** (в его качестве рекомендуется использовать физиологический раствор в объеме, указанном в инструкции к комплекту/набору реагентов для выделения нуклеиновых кислот, или отрицательный контрольный образец, входящий в состав соответствующего комплекта/набора реагентов).

### 2 Подготовка и проведение реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции

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

**ВНИМАНИЕ!** При расфасовке смеси для амплификации в стрипы строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов!

**2.1** Промаркируйте по одной пробирке со смесью для амплификации для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К-) и положительного контрольного образца (К+).

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

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

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

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

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

**2.4** Встряхните пробирку в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 сек на микроцентрифуге-вортексе.

**ВНИМАНИЕ!** Смесь ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT необходимо готовить непосредственно перед использованием, она должна быть использована в течение двух часов после приготовления.

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

**ВНИМАНИЕ!** При использовании для проведения ПЦР приборов CFX96 и Rotor-Gene Q минеральное масло в пробирки не вносится!

**2.6** Добавьте в каждую пробирку (при необходимости) по 1 капле (около 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки пробирок.

**2.7** Встряхните пробирки с исследуемыми и контрольными образцами в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

<sup>5</sup> - см. полную инструкцию № 616-1 от 2020-05-28

**ВНИМАНИЕ!** Для предотвращения контаминации следует перед внесением РНК открывать крышки только тех пробирок/стрипов, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. Препараты РНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

- 2.8** Внесите, не повреждая слой парафина, по 10 мкл препарата РНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов. В пробирки «К-», «К+» РНК не вносится.
- 2.9** Внесите, не повреждая слой парафина, 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК, в пробирку, маркированную «К-». Внесите, не повреждая слой парафина, 10 мкл положительного контрольного образца в пробирку, маркированную «К+».
- 2.10** Центрифугируйте пробирки в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 2.11** Установите все пробирки в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 40 мкл.

При использовании приборов серии ДТ: запустите программное обеспечение RealTime\_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите файл «SARS2,SARS\_RNA-IC.ini». При последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе положительного и отрицательного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 2.11) и проведите ПЦР.

Программа амплификации для приборов Rotor-Gene Q и CFX96 приведена в таблицах 3, 4.

- 3** **Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов. Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицами 5, 6.

Т а б л и ц а 3 – Программа амплификации для прибора Rotor-Gene Q

№ /Cycling	Температура, °C /Temperature	Время /Hold Time, sec	Количество циклов /Cycle Repeats
Cycling	32 deg	1200	1 time
Cycling 2	95 deg	300	1 time
Cycling 3	94 deg	10	50 times
	60 deg ✓	15	

✓- режим оптических измерений, установить измерение флуоресценции (Acquiring) по каналам Green (Fam), Yellow (Hex), Orange (Rox) и Red (Cy5) при 60 °C

Т а б л и ц а 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96 (Bio-Rad)

№ 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 Fam, Hex, Rox, и Cy5 при 64 °C

### Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладозементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения компонентов набора, в течение всего срока годности или в термоконтейнерах с хладозементами при температуре внутри контейнера до 25 °C не более 5 суток.

Фермент Taq/RT следует хранить при температуре от минус 18 °C до минус 22 °C в течение всего срока годности. Пробирки с запечатанной парафином смесью для амплификации, ОТ-ПЦР-буфер, минеральное масло, внутренний контрольный образец и положительный контрольный образец следует хранить в защищенном от света месте при температуре от 2 °C до 8 °C в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации. По вопросам, касающимся качества набора реагентов для выявления РНК коронавирусов SARS-CoV-2 и подобных SARS-CoV методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (SARS-CoV-2/SARS-CoV), следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу: ООО «ДНК-Технология», 117587, г. Москва, Варшавское ш., д.125Ж, корпус 6, этаж 5, комн.14, тел./факс +7 (495) 640-17-71, www.dna-technology.ru

Служба клиентской поддержки: 8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный), +7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).

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

Т а б л и ц а 5 - Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam/Green	Hex/Yellow	Rox/Orange	Cy5/Red	
<b>Анализируемые образцы</b>				
<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	Не учитывается	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	<b>Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2*</b>
<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	Не учитывается	Ср/Ct/Cq не указан	Ср/Ct/Cq не указан	<b>Обнаружена РНК коронавирусов подобных SARS-CoV, РНК коронавируса SARS-CoV-2 не обнаружена</b>
Ср/Ct/Cq не указан	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	Ср/Ct/Cq не указан	Ср/Ct/Cq не указан	РНК коронавирусов подобных SARS-CoV не обнаружена, РНК SARS-CoV-2 не обнаружена
<b>Положительный контрольный образец</b>				
<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	Ср/Ct/Cq не указан	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	Результат положительный Результаты постановки валидны
<b>Отрицательный контрольный образец</b>				
Ср/Ct/Cq не указан	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	Ср/Ct/Cq не указан	Ср/Ct/Cq не указан	Результат отрицательный Результаты постановки валидны

\*Не исключено одновременное присутствие в образце РНК коронавируса SARS-CoV-2 и других коронавирусов подобных SARS-CoV

Т а б л и ц а 6 – Другие возможные результаты исследования

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam/Green	Hex/Yellow	Rox/Orange	Cy5/Red	
<b>Анализируемые образцы</b>				
<b>Ср/Cq ≤ 37 Ct ≤ 35</b>	Не учитывается	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	Ср/Ct/Cq не указан	Требуются дополнительные исследования, возможна мутация в одном из генов SARS- CoV-2
		Ср/Ct/Cq не указан	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	
Ср/Ct/Cq не указан или <b>Ср/Cq ≥ 37 Ct ≥ 35</b>	Не учитывается	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	Не учитывается	Вероятна низкая концентрация РНК SARS- CoV-2. Требуется либо повторное выделение препарата нуклеиновых кислот, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно)
		Не учитывается	<b>Ср/Ct/Cq указан</b>	
Ср/Ct/Cq не указан	Ср/Ct/Cq не указан	Ср/Ct/Cq не указан	Ср/Ct/Cq не указан	Результат недостоверный. Требуется перестановка ПЦР, повторное выделение РНК для данного образца или повторное взятие клинического образца (выполняется последовательно).

### Символы, используемые при маркировке набора реагентов

	Медицинское изделие для диагностики in vitro		Каталожный номер		Серия набора
	Температурный диапазон		Дата производства		Не стерильно
	Годен до		Обратитесь к инструкции по применению		Одноразовое использование
	Не допускается воздействие солнечного света		Адрес производителя		Количество тестов