



635-2 2022-08-29

Регистрационное удостоверение  
№ РЗН 2021/15157 от 20 августа 2021 года

**!** В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов SARS-CoV-2/Грипп Комплекс. Изучите инструкцию перед началом работы.

## Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, вирусов гриппа А и гриппа В методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/Грипп Комплекс)

**REF** R3-P440-S3/9 (стрипы)  
R3-P440-23/9 (пробирки)

### Информация о наборе

**Назначение:**

Набор реагентов предназначен для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, вирусов гриппа А (Influenza A virus) и гриппа В (Influenza B virus) 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», «ДТпрайм», ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология») или Rotor-Gene Q (QIAGEN).

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

**Количество исследуемых образцов:**

96 (включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов).

### 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
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 810 мкл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	55 мкл
Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов <sup>1</sup>		12 шт.	

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

Fam/Green	Hex/Yellow	Rox/Orange	Cy5/Red
Influenza A virus	РНК-ВК	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	Influenza B virus

<sup>1</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 наборы/комплекты для выделения РНК, зарегистрированные в РФ в установленном порядке. Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому набору/комплекту реагентов.

Таблица 2 – Наборы/комплекты реагентов (производства ООО «НПО ДНК-Технология»), валидированные для использования совместно с набором SARS-CoV-2/Грипп Комплекс

Биоматериал	ПРОБА-НК	ПРОБА-НК (укороченная методика) <sup>2</sup>	ПРОБА-НК-S	ПРОБА-МЧ-НК-S
<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.

В случае применения для выделения РНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-НК-S возможно увеличение объема до 100 мкл.

**Внутренний контрольный образец.** В качестве внутреннего контрольного образца при выделении РНК используется внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" из набора реагентов SARS-CoV-2/Грипп Комплекс.

РНК-ВК "А" 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 набору/комплекту реагентов для выделения нуклеиновых кислот, или отрицательный контрольный образец, входящий в состав соответствующего набора/комплекта 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 смесью для амплификации.

**ВНИМАНИЕ!** При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы», строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

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

Пример: 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 доставать 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 с на микроцентрифуге-вортексе.

**ВНИМАНИЕ!** Смесью можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного часа.

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

**2.6** 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.

**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. Закрывайте пробирки/стрипы плотно. Препараты РНК и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

**2.7** Внесите, не повреждая слой парафина, в соответствующие пробирки для исследуемых образцов по 10 мкл полученного из образцов препарата РНК. В пробирки «К-», «К+» РНК не вносится.

<sup>2</sup> – см. инструкцию

- 2.8** Внесите, не повреждая слой парафина, в пробирку, промаркированную «К-», 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК. Внесите, не повреждая слой парафина, в пробирку, промаркированную «К+», 10 мкл положительного контрольного образца.
- 2.9** Центрифугируйте пробирки в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе (при использовании для проведения ПЦР прибора Rotor-Gene Q центрифугирование не обязательно).
- 2.10** 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 установочный файл «SARS\_Influ». При последующих постановках добавляйте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ОТ-ПЦР.

- 3** **Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов. Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицами 3, 4. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

### Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения компонентов набора, в течение всего срока годности. Допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

Пробирки/стрипы со смесью для амплификации, запечатанной парафином, ОТ-ПЦР-буфер, внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" и положительный контрольный образец следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Пробирки/стрипы со смесью для амплификации, запечатанной парафином, следует хранить в защищённом от света месте.

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов SARS-CoV-2/Грипп Комплекс, 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](mailto:hotline@dna-technology.ru), [www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)

### Символы, используемые при маркировке набора реагентов

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Каталожный номер		Серия набора
	Температурный диапазон		Дата изготовления		Не стерильно
	Годен до		Обратитесь к инструкции по применению		Одноразовое использование
	Не допускается воздействие солнечного света		Адрес изготовителя		Количество тестов

Т а б л и ц а 3 - Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam/Green	Hex/Yellow	Rox/Orange	Cy5/Red	
<b>Анализируемые образцы</b>				
<b>Ср/Ct указан</b>	Не учитывается	Ср/Ct не указан	Ср/Ct не указан	<b>Обнаружена РНК Influenza A virus</b>
Ср/Ct не указан	Не учитывается	<b>Ср/Ct указан</b>	Ср/Ct не указан	<b>Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2</b>
Ср/Ct не указан	Не учитывается	Ср/Ct не указан	<b>Ср/Ct указан</b>	<b>Обнаружена РНК Influenza B virus</b>
Ср/Ct не указан	<b>Ср/Ct указан</b>	Ср/Ct не указан	Ср/Ct не указан	Не обнаружена РНК выявляемых вирусов
Ср/Ct не указан	Ср/Ct не указан	Ср/Ct не указан	Ср/Ct не указан	Недостовверный результат. Требуется либо повторное выделение препарата РНК, либо повторное взятие биологического материала (выполняется последовательно)
<b>Положительный контрольный образец</b>				
<b>Ср/Ct указан</b>	Ср/Ct не указан	<b>Ср/Ct указан</b>	<b>Ср/Ct указан</b>	Положительный результат Результаты постановки валидны
<b>Отрицательный контрольный образец</b>				
Ср/Ct не указан	<b>Ср/Ct указан</b>	Ср/Ct не указан	Ср/Ct не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны

Т а б л и ц а 4 – Другие возможные результаты ПЦР

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam/Green	Hex/Yellow	Rox/Orange	Cy5/Red	
<b>Анализируемые образцы</b>				
<b>Ср/Ct указан</b>	Не учитывается	<b>Ср/Ct указан</b>	Ср/Ct не указан	<b>Обнаружена РНК Influenza A virus, обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2</b>
Ср/Ct не указан	Не учитывается	<b>Ср/Ct указан</b>	<b>Ср/Ct указан</b>	<b>Обнаружена РНК Influenza B virus, обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2</b>
<b>Ср/Ct указан</b>	Не учитывается	Ср/Ct не указан	<b>Ср/Ct указан</b>	<b>Обнаружена РНК Influenza A virus, обнаружена РНК Influenza B virus</b>
<b>Ср/Ct указан</b>	Не учитывается	<b>Ср/Ct указан</b>	<b>Ср/Ct указан</b>	<b>Обнаружена РНК Influenza A virus, обнаружена РНК Influenza B virus, обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2</b>

Если для биологического образца регистрируется рост уровня флуоресценции для специфического продукта ранее 25 цикла по Ср (Ср менее 25 или Ct менее 22), то это говорит о высокой первоначальной концентрации РНК соответствующего возбудителя. В данном случае возможно получение ложноотрицательного результата при микст-инфицировании для возбудителя, РНК которого присутствует в низкой концентрации. Для исключения ложноотрицательных результатов рекомендуется повторно провести ОТ-ПЦР для выделенного препарата РНК с использованием набора реагентов для индивидуального выявления соответствующего вируса. Вопрос микст-инфицирования изучен недостаточно, исходя из небольшого количества опубликованных литературных данных, совместное инфицирование Influenza (A или B) и SARS-CoV-2 может встречаться в 0,5-5% случаев, увеличиваясь с возрастом пациентов.