

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2023/19830 от 20 марта 2023 года**В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/Грипп Комплекс.**

Перед началом работы изучите инструкцию.

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

REF**R3-P448-S3/9 (Фасовка S, стрипы)**
R3-P448-23/9 (Фасовка S, пробирки)

Информация о наборе реагентов

Назначение:

Набор реагентов предназначен для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вирусов гриппа А (Influenza A virus) и гриппа В (Influenza B virus) (без дифференцирования) 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.

Набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

Специализированное оборудование:

Аmplификаторы детектирующие «ДТпрайм», «ДТлайт» и ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология»).

Время проведения анализа (включая пробоподготовку): от 2 часов.**Количество исследуемых образцов:**

96 определений (не более 12 постановок), включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов.

Состав набора:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная жидкость от бесцветного до розового цвета под воскообразным белым слоем	96 пробирок или 12 стрипов по 8 пробирок	по 15 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,62 мл
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 ¹		12 шт.	

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

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
RSV	ВК*	Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, N	Influenza A virus /Influenza B virus	-

* - внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"

¹ - 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 реагентов для выделения РНК, зарегистрированные в РФ в установленном порядке. Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого комплекта/набора реагентов.

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

Биоматериал	ПРОБА-НК	ПРОБА-НК (сокращенная методика) ²	ПРОБА-НК-S	ПРОБА-МЧ-НК-S	ПРОБА-МЧ-DWP
Мазки из носоглотки, ротоглотки	+	+	+	+	+
Бронхоальвеолярный лаваж	+	-	-	-	-
Эндотрахеальный, назофарингеальный аспират	+	-	-	-	-
Мокрота	+	-	-	-	-

В ходе подготовки мазков из носоглотки и 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 наборов реагентов ПРОБА-МЧ-НК-S и ПРОБА-МЧ-DWP возможно увеличение объема до 100 мкл.

Внутренний контрольный образец. В качестве внутреннего контрольного образца при выделении РНК использовать внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" из набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/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 по применению комплекта /набора 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 смесью для амплификации.

ВНИМАНИЕ! При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы», следует 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 содержимое пробирок «ОТ-ПЦР-буфер» и «Фермент Taq/RT» на микроцентрифуге-вортексе 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. Для этого 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 Тщательно перемешайте содержимое пробирки с приготовленной смесью ОТ-ПЦР-буфера и фермента Taq/RT 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 образцами и контрольными образцами в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ!

1. При использовании для выделения РНК набора реагентов ПРОБА-МЧ-НК-S необходимо после встряхивания поместить пробирки с препаратом РНК в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную РНК, была перенесена в новые пробирки, центрифугирование после встряхивания производится в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

² – см. инструкцию

2. Для предотвращения контаминации следует перед внесением РНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед использованием 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, промаркированные «K-», «K+», РНК не вносится.
- 2.8** Внесите, не повреждая слой парафина, в пробирку, промаркированную «K-», 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК.
- 2.9** Внесите, не повреждая слой парафина, в пробирку, промаркированную «K+», 10 мкл положительного контрольного образца.
- 2.10** Центрифугируйте пробирки/стрипы в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 2.11** Установите все пробирки/стрипы в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 40 мкл.
- 2.12** При использовании приборов серии ДТ: Запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». Параметры, которые вводят при создании нового теста (программа амплификации, используемые каналы детекции, объем реакционной смеси и т.п.) в приборах серии ДТ, можно сохранить в виде готового файла. Для удобства работы при первом проведении ОТ-ПЦР загрузите готовый файл с параметрами теста. Далее и при последующих остановках добавьте в протокол 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 ОТ-ПЦР** проводятся автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов. Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 3. 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 внутри термоконтейнеров, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.

Для части, хранящейся при температуре от 2°C до 8°C, допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2°C до 25°C не более 5 суток.

Для части, хранящейся при температуре от минус 18°C до минус 22°C, допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25°C не более 5 суток.

Все компоненты набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °C до 8 °C в течение всего срока годности набора реагентов. Пробирки (стрипы) со смесью для амплификации, запечатанной парафином, следует хранить в защищённом от света месте. Фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °C до минус 22 °C 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 – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/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, www.dna-technology.ru

Символы, используемые при маркировке набора реагентов

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

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

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

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

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam	Hex	Rox	Cy5	
Анализируемые образцы				
Ср указан	Не учитывается	Ср указан	Ср не указан	Обнаружена РНК респираторно-синцициального вируса (RSV); обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2
Ср не указан	Не учитывается	Ср указан	Ср указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2; обнаружена РНК Influenza A virus / Influenza B virus
Ср указан	Не учитывается	Ср не указан	Ср указан	Обнаружена РНК респираторно-синцициального вируса (RSV); обнаружена РНК Influenza A virus / Influenza B virus
Ср указан	Не учитывается	Ср указан	Ср указан	Обнаружена РНК респираторно-синцициального вируса (RSV); обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2; обнаружена РНК Influenza A virus / Influenza B virus

Если для биологического образца регистрируется рост уровня флуоресценции для специфического продукта ранее 25 цикла по Ср, 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.