



**В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов SARS-CoV-2 Лайт.**  
Перед началом работы изучите инструкцию.



## Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2 Лайт)

**R3-P446-S3/9 (Фасовка S, стрипы)**

### Информация о наборе реагентов

**Назначение:**

Набор реагентов предназначен для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале человека (мазок из носоглотки, ротоглотки) методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике, безопасность работы лабораторий должна быть обеспечена в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

**Специализированное оборудование:**

Амплификаторы детектирующие «ДТпрайм», «ДТлайт» (ООО «НПО ДНК-Технология»), CFX96 (Bio-Rad) или Applied Biosystems Quant Studio 5 («Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.»).

**Особенности набора реагентов:**

Используется технология «прямой ОТ-ПЦР»: выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2 проводят без этапа выделения РНК из клинических образцов.

**Время проведения анализа:** от 1,5 часов.

**Количество исследуемых образцов:**

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

### Состав набора реагентов:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная жидкость под воскообразным белым слоем	12 стрипов по 8 пробирок	по 25 мкл
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,62 мл
Фермент Taq/RT	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	110 мкл
Внутренний контрольный образец (РНК-ВК)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	110 мкл
Положительный контрольный образец (К+)	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов		12 шт.	

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

Fam	Hex
Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, RdRP	ВК <sup>1</sup>

<sup>1</sup> - Внутренний контрольный образец (РНК-ВК)

## Проведение анализа

### ВНИМАНИЕ!

1. Выделение РНК из клинических образцов не проводят за счёт технологии «прямой ОТ-ПЦР».
2. Не допускается использовать транспортные среды, содержащие соли гуанидина. Во избежание ингибирования ПЦР рекомендуется при работе с набором реагентов «SARS-CoV-2 Лайт» использовать транспортную среду («Транспортная среда для биопроб STOP-Ф по ТУ 21.20.23-101-46482062-2019», ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640; «Набор реагентов для транспортировки и хранения клинического материала (Транспортный раствор) по ТУ 9398-550-23548172-2016», АО«Вектор-Бест», Россия, РУ № РЗН 2017/6004) или стерильный физиологический раствор хлорида натрия.
3. Рекомендуется перед проведением анализа центрифугировать пробирки с биоматериалом в транспортной среде при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 1 мин.
4. В качестве отрицательного контрольного образца рекомендуется использовать физиологический раствор или транспортную среду STOP-Ф (ООО «ДНК-Технология ТС», Россия).

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

#### ВНИМАНИЕ!

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

#### 1.1 Промаркируйте по одной 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.

#### 1.2 Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-вортексе содержимое пробирок «ОТ-ПЦР-буфер», «Фермент Taq/RT», «РНК-ВК» и центрифугируйте в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

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

#### 1.3 Приготовьте смесь ОТ-ПЦР-буфера, фермента Taq/RT и внутреннего контрольного образца (РНК-ВК). Для этого смешайте в отдельной пробирке:

- 15 × (N+1) мкл ОТ-ПЦР-буфера,
- 1,0 × (N+1) мкл внутреннего контрольного образца (РНК-ВК),
- 1,0 × (N+1) мкл фермента Taq/RT,

где N – количество промаркированных пробирок с учётом «К-» и «К+».

#### 1.4 Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-вортексе содержимое пробирки с приготовленной смесью и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

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

#### 1.5 Добавьте в каждую пробирку, не повреждая слой парафина, по 15 мкл приготовленной смеси.

#### 1.6 Встряхните пробирки с контрольными образцами в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе. Рекомендуется перед проведением анализа центрифугировать пробирки с исследуемыми образцами при RCF(g) 12000 - 16000 в течение 1 мин.

**ВНИМАНИЕ!** После внесения образцов в пробирки стрипа следует закрывать крышку стрипа перед использованием следующего. Исследуемые образцы и контрольные образцы следует вносить наконечниками с фильтром.

#### 1.7 Внесите в соответствующие пробирки для исследуемых образцов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл образца биоматериала, взятого в транспортную среду.

#### 1.8 Внесите в пробирку, маркированную «К-», не повреждая слой парафина, 10 мкл отрицательного контрольного образца.

#### 1.9 Внесите в пробирку, маркированную «К+», не повреждая слой парафина, 10 мкл положительного контрольного образца.

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

**ВНИМАНИЕ! ОТ-ПЦР необходимо провести СРАЗУ после приготовления реакционных смесей с внесёнными образцами биологического материала. Не допускается хранение подготовленных пробирок до проведения исследования.**

#### 1.11 Установите все стрипы в блок детектирующего амплификатора и проведите ОТ-ПЦР с учетом объёма реакционной смеси, равного 50 мкл.

При использовании приборов серии ДТ: запустите программное обеспечение RealTime\_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите готовый файл с параметрами теста «SARS2\_Lite». 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 и проведите ПЦР. Программы амплификации для приборов CFX96 и Applied Biosystems Quant Studio 5 приведены в таблицах 2, 3.

### 2 Регистрация и учёт результатов ОТ-ПЦР проводится автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов. Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 4.

При использовании детектирующих амплификаторов CFX96 (Bio-Rad) следует использовать регрессионный тип анализа (Cq Determination Mode: Regression). При использовании детектирующих амплификаторов Applied Biosystems Quant Studio 5 («Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.») в настройках алгоритма необходимо выбрать «Относительный порог», в настройках Ct начальный цикл базовой линии «1», конечный цикл базовой линии «40».

Т а б л и ц а 2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96 (Bio-Rad)

№ блока (Step)	Температура, °С	Время мин:сек	Количество циклов (повторов)
1	60	05:00	1
2	94	01:00	1
3	94	0:10	5
4	59	0:10	
5	67	0:10	
6	94	0:05	40
7	59 ✓	0:10	
8	64	0:10	

✓- режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по каналам Fam и Hex при 59 °С

Т а б л и ц а 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов Applied Biosystems Quant Studio 5 («Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.»)

Стадия	№ шага	Температура, °С	Время мин:сек	Количество циклов (повторов)
Стадия удержания	1	60	05:00	1
	2	94	01:00	1
Стадия ПЦР	1	94	0:10	5
	2	59	0:10	
	3	67	0:10	
Стадия ПЦР	1	94	0:05	40
	2	59 ✓	0:10	
	3	64	0:10	

✓-сбор данных для флуорофоров Fam, Hex включен

Канал детекции		Интерпретация результата
Fam	Hex	
<b>Анализируемые образцы</b>		
<b>Ср/Сq/Сt ≤34</b>	Не учитывается	<b>Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2</b>
<b>Ср/Сq/Сt &gt;34</b>	Не учитывается	Полученный результат указывает на низкое содержание РНК коронавируса SARS-CoV-2, которое может быть связано с низкой вирусной нагрузкой в клиническом образце, с перекрёстной контаминацией высококопийными образцами или с ингибированием ОТ-ПЦР. Следует однократно провести повторное взятие биоматериала или повторное проведение ОТ-ПЦР. В случае повторения результата, следует выдать итоговый результат "Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2".
Ср/Сq/Сt не указан	<b>Ср/Сq/Сt указан</b>	Не обнаружена РНК SARS-CoV-2
Ср/Сq/Сt не указан	Ср/Сq/Сt не указан	Недостовверный результат
<b>Отрицательный контрольный образец</b>		
Ср/Сq/Сt не указан	<b>Ср/Сq/Сt указан</b>	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
<b>Положительный контрольный образец</b>		
<b>Ср/Сq/Сt указан</b>	Не учитывается	Положительный результат Результаты постановки валидны

### Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов. Допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера до 25 °С не более 5 суток.

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.

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 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов SARS-CoV-2 Лайт, 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 (Температурный диапазон)		Изготовитель
	Использовать до		Код партии (Код серии набора)
	Не допускать воздействие солнечного света		Нестерильно
	Номер по каталогу		Содержимого достаточно для проведения <i>n</i> тестов (Количество определений)
	Дата изготовления		