

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2025/24624 от 03 февраля 2025 годаВ данном вкладыше приведена информация для набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В.
Перед началом работы изучите инструкцию.

Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса гриппа В (Influenza B virus) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В)

REF R3-P457-S3/9 (Фасовка S, стрипы)
R3-P457-23/9 (Фасовка S, пробирки)

Информация о наборе реагентов

Назначение:

Набор реагентов предназначен для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2, респираторно-синцитиального вируса (RSV), вируса гриппа А (Influenza A virus) и вируса 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. Набор реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

Специализированное оборудование:Детектирующие амплификаторы планшетного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, детектирующие амплификаторы «ДТпрайм»¹, «ДТлайт»² (ООО «НПО ДНК-Технология»).**Время проведения анализа (включая пробоподготовку):** от 2 часов (в зависимости от количества образцов и используемого набора/комплекта реагентов для выделения РНК).**Количество анализируемых образцов:**

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

Состав набора:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость 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" ³	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,0 мл
Положительный контрольный образец ³	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов ⁴		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 B virus	Influenza A virus

* - внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"

¹ - модификация 5M*² - модификация 5S*³ - на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+», «Внутренний контрольный образец РНК-ВК "А"» указывается как «РНК-ВК "А"»⁴ - входят в состав набора реагентов при расфасовке смеси для амплификации, запечатанной парафином, в стрипы

Проведение анализа

1 Выделение РНК

Для выделения РНК рекомендуется использовать наборы/комплекты реагентов, имеющие регистрационные удостоверения на медицинское изделие и предназначенные для соответствующих видов биоматериала с целью последующего исследования ДНК методом ПЦР, например, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-S, ПРОБА-МЧ-НК-S, ПРОБА-МЧ-DWP, ПРОБА-МЧ-РАПИД II (таблица 2). Выделение РНК проводят в соответствии с инструкцией по применению используемого комплекта/набора реагентов.

Таблица 2 – Наборы/комплекты реагентов, валидированные для использования совместно с набором SARS-CoV-2/RSV/Грипп Комплекс

Биоматериал	ПРОБА-НК	ПРОБА-НК (сокращенная методика) ¹	ПРОБА-НК-S	ПРОБА-МЧ-НК-S	ПРОБА-МЧ-DWP	ПРОБА-МЧ-РАПИД II
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 используется внутренний контрольный образец РНК-ВК "А" из набора реагентов SARS-CoV-2/RSV/Грипп А/Грипп В.

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

ВНИМАНИЕ! Одновременно с выделением РНК из биологического материала необходимо подготовить **отрицательный контрольный образец** и провести его через все этапы пробоподготовки. 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.

2 Подготовка и проведение реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции

ВНИМАНИЕ! При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирку 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 неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

Пример:

Необходимо проанализировать 6 образцов. Нужно промаркировать 6 пробирок для неизвестных 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 одноразовой 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 пробирку, не повреждая слой парафина, по 15 мкл смеси ОТ-ПЦР-буфера с ферментом Taq/RT.

¹ - см. инструкцию

ВНИМАНИЕ! После добавления смеси ОТ-ПЦР-буфера и фермента Taq/RT в пробирки со смесью для амплификации необходимо сразу же выполнить 2.6 – 2.12.

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

2. При использовании для выделения РНК комплекта реагентов ПРОБА-НК и набора реагентов ПРОБА-НК-S встряхните пробирки с препаратом РНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

3. При использовании для выделения РНК набора реагентов ПРОБА-МЧ DWP центрифугируйте заклеенный плёнкой глубоколоночный планшет с препаратом РНК и отрицательным контрольным образцом при RCF(g) 100 в течение 30 с для осаждения конденсата и снимите плёнку.

4. 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 в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл выделенного из образцов препарата РНК. В пробирки, промаркированные «К-», «К+», РНК не вносится.

2.8 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», не повреждая слой парафина, 10 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения РНК.

2.9 Внесите в пробирку, промаркированную «К+», не повреждая слой парафина, 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 (2.12).

2.12 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 положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ОТ-ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

Т а б л и ц а 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ 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 ²	Хранение		Хранение
√- режим оптических измерений						

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

² - допускается хранение при температуре 10 °С

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

Т а б л и ц а 4 – Интерпретация результатов ОТ-ПЦР

Канал детекции					Интерпретация результата
Fam, Cp	Hex, Cp	Rox, Cp	Cy5, Cp	Cy5.5, Cp	
Неизвестные образцы					
Указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК респираторно-синцициального вируса (RSV)
Не указан	Не учитывается	Указан	Не указан	Не указан	Обнаружена РНК коронавируса SARS-CoV-2
Не указан	Не учитывается	Не указан	Указан	Не указан	Обнаружена РНК Influenza B virus
Не указан	Не учитывается	Не указан	Не указан	Указан	Обнаружена РНК Influenza A virus
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не указан	Не обнаружена РНК выявляемых вирусов
Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Не указан	Недостовверный результат
Отрицательный контрольный образец					
Не указан	Указан	Не указан	Не указан	Не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец					
Указан	Не учитывается	Указан	Указан	Указан	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 термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.

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.

Допускается транспортирование фермента Taq/RT в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера 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 реагентов. Смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в защищённом от света месте.

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.

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