

Amplitech SARS-CoV-2 (D)

Набор реагентов для качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech SARS-CoV-2 (D))

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

REF P006-0

 96

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ.....	4
1.1 Область применения.....	4
2 СОСТАВ.....	4
3 ПРИНЦИП МЕТОДА.....	5
3.1 Характеристика положительного контроля ПК SC2.....	5
4 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	5
5 ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	6
5.1 Предупреждения.....	6
5.2 Меры предосторожности.....	6
6 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ.....	7
7 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	8
7.1 Исследование методом «прямой» ОТ-ПЦР (без экстракции РНК) мазков из носоглотки и/или ротоглотки, взятых в транспортную среду «ТС (D)».....	8
7.2 Исследование образцов биологического материала, включая экстракцию РНК.....	9
8 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	11
9 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ.....	12
10 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.....	12
10.1 Контроли, используемые в процессе исследования.....	12
10.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации.....	13
10.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований.....	13
11 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.....	13
11.1 Предел обнаружения.....	13
11.2 Аналитическая специфичность.....	13
11.3 Прецизионность измерений.....	15
11.4 Диагностические характеристики.....	15
12 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.	15
12.1 Срок годности.....	15
12.2 Хранение.....	15
12.3 Транспортирование.....	15
12.4 Эксплуатация.....	16
13 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ.....	16
14 БИБЛИОГРАФИЯ.....	16
15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	16
16 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	17
17 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА.....	17
18 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	17

ВВЕДЕНИЕ

1. Настоящая инструкция по применению версии 14.11.22 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» (Amplitech SARS-CoV-2 (D))», по ТУ 21.20.23-011-19926214-2021 (далее – набор).

Краткое наименование набора: Amplitech SARS-CoV-2 (D).

Набор следует применять в соответствии с действующей версией инструкции по применению. Для удобства работы в лаборатории допускается использовать действующую версию краткого руководства по применению набора.

2. Коронавирус SARS-CoV-2 представляет собой оболочечный одноцепочечный РНК-содержащий вирус из семейства Coronaviridae, рода Betacoronavirus линии Beta-CoV B. SARS-CoV-2 впервые выявлен в конце 2019 года, вызывает опасное инфекционное заболевание — COVID-19, отнесён ко II группе патогенности.

SARS-CoV-2 включён в перечень заболеваний, представляющих опасность для окружающих (постановление Правительства РФ от 31 января 2020 г. № 66). Передача инфекции осуществляется воздушно-капельным, воздушно-пылевым и контактным путями. Диагноз COVID-19 устанавливается на основании клинического обследования, данных эпидемиологического анамнеза и результатов лабораторных исследований.

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале, полученном от лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания с подозрением на инфекцию COVID-19, а также от лиц, не имеющих признаков простудных заболеваний, методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Материалом для исследования служат образцы РНК, экстрагированной с применением набора реагентов «РНК-100» (ООО «Ампитек») из следующих видов биологического материала человека:

- мазки из носоглотки и/или ротоглотки,
- мокрота.

Набор может быть использован для исследования мазков из носоглотки и/или ротоглотки методом «прямой» ОТ-ПЦР без проведения экстракции РНК при условии, что мазки собраны в инактивирующую транспортную среду «ТС (D)» (ООО «Ампитек»).

1.1 Область применения

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro* коронавирусной инфекции COVID-19 (выявление РНК SARS-CoV-2). Отрицательные результаты исследования с помощью набора не исключают возможность инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2 и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациента. Отрицательные результаты исследования должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

Набор может применяться в клинико-диагностических лабораториях.

2 СОСТАВ

Состав набора¹ указан в таблице 1.

Таблица 1

Состав набора			
Компонент	Номинальный объём, мл	Кол-во	Внешний вид
Смесь-1 SC2 (D) (Буферный раствор со специфическими праймерами, флуоресцентно-мечеными зондами и дНТФ)	0,48	1 пробирка	Прозрачная жидкость от бесцветного до светло-лилового цвета
Смесь-2 D (Буферный раствор с сульфатом магния, термостабильной ДНК-полимеразой, ревертазой)	0,48	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ВК (Раствор, содержащий генно-инженерную конструкцию с синтетическим фрагментом РНК)	0,96	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ОК (Буферный раствор)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
ПК SC2 (Раствор, содержащий генно-инженерную конструкцию с фрагментом кДНК SARS-CoV-2)	0,8	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость

¹ Набор упакован в полиэтиленовый пакет с застёжкой Zip-Lock.

Компонент	Номинальный объем, мл	Кол-во	Внешний вид
Инструкция по применению	–	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	–	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде ² по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

Набор рассчитан на проведение исследования 96 образцов, включая контроли.

3 ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследование с помощью набора проводится методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Детекция продуктов ОТ-ПЦР и отдельное выявление РНК SARS-CoV-2 и внутреннего контроля (ВК) обеспечивается применением в реакционной смеси для ОТ-ПЦР флуоресцентно-меченых олигонуклеотидов, сигналы от которых регистрируются по различным каналам флуоресцентной детекции, указанным в таблице 2.

Таблица 2

Каналы детекции мишеней

Канал детекции сигнала от флуорофора	Мишень	Область амплификации
FAM	РНК ВК	Искусственно синтезированная последовательность
R6G ³	РНК SARS-CoV-2	Гены <i>Nsp1</i> и <i>RdRp</i> региона ORF1ab

3.1 Характеристика положительного контроля ПК SC2

Концентрация клонированного фрагмента кДНК SARS-CoV-2 в ПК SC2 составляет $5 \lg \pm 0,5 \lg$ копий/мл. Концентрация определяется с помощью установленной производителем методики выполнения измерений на основе метода лимитирующих разведений [1, 2].

4 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются следующие оборудование и материалы:

- ПЦР-бокс;
- центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518);
- дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 5 до 200 мкл (РУ № ФСР 2009/05681);
- программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (ДТпрайм (ООО «НПО ДНК-Технология»; РУ № ФСЗ 2011/10229), CFX96 (Bio-Rad Laboratories, Inc.; РУ № ФСЗ 2008/03399), Applied

² В случае отсутствия доступа к Интернету обратитесь в службу технической поддержки по телефону (495) 374-13-46 для запроса о предоставлении бумажной версии паспорта.

³ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров Нех и Джо.

Biosystems QuantStudio 5 (Life Technologies Holdings Pte. Ltd.; РУ № РЗН 2019/8446));

- штатив для пробирок объемом 0,2 и 1,5 мл;
- холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С;
- пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с оптически прозрачной крышкой, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз;
- пробирки объемом 1,5 мл, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз, для приготовления реакционной смеси;
- наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 10, 100 и 200 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз;
- ёмкость для сброса использованных материалов;
- перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.

5 ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

5.1 Предупреждения

Класс потенциального риска применения набора (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012) – 3.

Вирус SARS-CoV-2 отнесён ко II группе патогенности.

Набор не определяет наличие коронавируса SARS-CoV-2, если его концентрация ниже заявленного предела обнаружения набора (500 копий/мл).

5.2 Меры предосторожности

Работа должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р 52905 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов исследования.
- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и прошедший специальную подготовку по безопасности работы с патогенными биологическими агентами II группы патогенности.
- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.
- Утилизировать реагенты (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения) в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические

требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Не открывать пробирки с продуктами амплификации в процессе их сбора и утилизации.

- Утилизировать внешнюю упаковку набора, инструкцию по применению и краткое руководство в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса А.

- Утилизировать биологический материал, а также расходные материалы и инструменты, загрязнённые биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса В.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию, указанному в таблице 1.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром.

- Использовать защитную одежду в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Все операции проводить только в одноразовых неопудренных перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

Реагенты, входящие в состав набора, содержат натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируются как опасные для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть поражённое место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека.

6 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Набор предназначен для исследования только биологического материала, указанного в разделе 1. Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с:

- МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19»;

- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим

микроорганизмы I-IV групп патогенности»;

- требованиями, перечисленными в таблицах 3 и 4.

Таблица 3

Требования к взятию и предварительной обработке исследуемого материала

Взятие мазков из ротоглотки или носоглотки
Взятие мазка провести с помощью сухого медицинского стерильного одноразового зонда (например, ООО «ФармМедПолис РТ», Россия, РУ № РЗН 2021/13989) в пробирку с транспортной средой для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Инактивирующая транспортная среда (ТС (D))» (ООО «Амплитек»), «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; РУ № ФСР 2009/05011)).
Взятие и предобработка мокроты
Взятие материала в количестве не менее 1 мл провести в стерильный одноразовый контейнер с широким горлом (диаметром не менее 30 мм) и завинчивающейся крышкой. Предобработка: Провести разжижение мокроты, используя реагент для предобработки мокроты с целью проведения экстракции нуклеиновых кислот (например, реагент «Муколизин» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; РУ № ФСР 2011/12082) или реагент, соответствующий по составу требованиям п. 1.7 Приложения 2 МУ 1.3.2569-09).

Таблица 4

Требования к условиям транспортирования и хранения исследуемого материала

Условия транспортирования	Условия хранения
Мазки из носоглотки и ротоглотки	
Согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде.	
Мокрота	
При температуре от 2 °С до 8 °С	<ul style="list-style-type: none">• При температуре от 2 °С до 8 °С не более 2 суток;• При температуре минус 70 °С более 2 суток. Допускается однократное замораживание материала.• Примечание – При невозможности обеспечить хранение при минус 70 °С допустимо хранить при минус 20 °С.

7 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

7.1 Исследование методом «прямой» ОТ-ПЦР (без экстракции РНК) мазков из носоглотки и/или ротоглотки, взятых в транспортную среду «ТС (D)»

- 7.1.1 Прогреть пробирки с мазками, взятыми в «ТС (D)», при температуре 95 °С в течение 3 мин, затем перемешать на вортексе.
- 7.1.2 Перемешать содержимое пробирок с реагентами, входящими в состав набора, и осадить капли на вортексе.
- 7.1.3 Приготовить реакционную смесь для общего количества исследуемых и контрольных образцов, добавив компоненты в отдельную пробирку в объемах из расчёта на один образец:
 - 10 мкл ВК,
 - 5 мкл Смеси-1 SC2 (D),
 - 5 мкл Смесь-2 D.

Примечание – При расчёте объемов реагентов необходимо учитывать запас каждого

реагента не менее чем на один образец.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ОТ-ПЦР.

7.1.4 Перемешать полученную смесь и осадить капли на вортексе.

7.1.5 Отобрать необходимое количество пробирок для проведения ОТ-ПЦР с РНК исследуемых образцов и контролями (ОК и ПК). Промаркировать.

ВНИМАНИЕ! Каждая группа исследуемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК SC2 не менее чем в одном повторе.

7.1.6 Внести в пробирки по 20 мкл приготовленной реакционной смеси.

7.1.7 Внести в подготовленные пробирки с реакционной смесью по 5 мкл исследуемых образцов биологического материала (мазков из носоглотки/ротоглотки в «ТС (D)») и контролей (ОК, ПК SC2).

7.1.8 Запрограммировать амплификатор для проведения ОТ-ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 5.

Примечание – При программировании амплификатора указать объем реакции: 25 мкл.

Таблица 5

Программа ОТ-ПЦР и детекции

Цикл	Температура, °С	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	5 мин	–	1
2	95	1 с	–	10
	65	5 с	–	
3	95	1 с	–	32
	65	5 с	FAM, R6G ⁴	

7.1.9 Поместить пробирки с реакционной смесью и образцами в амплификатор и запустить программу.

Примечание – Перед постановкой в амплификатор рекомендуется осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

7.2 Исследование образцов биологического материала, включая экстракцию РНК

7.2.1 Перемешать содержимое пробирок с реагентами ВК, ОК и ПК SC2 и осадить капли на вортексе.

7.2.2 Провести экстракцию РНК из исследуемого материала и контролей с использованием набора реагентов «РНК-100» (ООО «Амплитек»; РУ № РЗН 2021/14184) согласно инструкции по его применению, с учётом требований к объёмам реагентов и образцов, указанных в таблице 6.

⁴ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров Нех и Джо.

Требования к объемам реагентов и образцов при экстракции РНК

Реагент/образец	Объем, мкл	Пробирка/ячейка планшета для проведения экстракции РНК
ВК	10	в каждую пробирку/ячейку
Исследуемый образец ⁵	100	в пробирку/ячейку для образца исследуемого материала
ОК	100	в пробирку/ячейку для отрицательного контроля (ОК)
ПК SC2	100	в пробирку/ячейку для положительного контроля (ПК)
Буфер В3	70	в каждую пробирку/ячейку

ВНИМАНИЕ! Каждая группа экстрагируемых образцов должна сопровождаться постановкой контролей ОК и ПК SC2 не менее чем в одном повторе.

7.2.3 Перемешать содержимое пробирок с реагентами Смесь-1 SC2 (D) и Смесь-2 D и осадить капли на вортексе.

7.2.4 Приготовить реакционную смесь для общего количества исследуемых и контрольных образцов, добавив компоненты в отдельную пробирку в объемах из расчета на один образец:

- 5 мкл Смеси-1 SC2 (D),
- 5 мкл Смесь-2 D.

Примечание – При расчете объемов реагентов необходимо учитывать запас каждого реагента не менее чем на один образец.

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси следует смешивать непосредственно перед проведением ОТ-ПЦР.

7.2.5 Отобрать необходимое количество пробирок для проведения ОТ-ПЦР с РНК исследуемых образцов и контролей (ОК и ПК). Промаркировать.

7.2.6 Внести в пробирки по 10 мкл приготовленной реакционной смеси.

7.2.7 Внести в подготовленные пробирки с реакционной смесью по 15 мкл образцов РНК, полученных в результате экстракции из исследуемых образцов и контролей (ОК, ПК SC2).

7.2.8 Запрограммировать амплификатор для проведения ОТ-ПЦР и детекции флуоресцентного сигнала согласно инструкции по его применению по программе, указанной в таблице 7.

Примечание – При программировании амплификатора указать объем реакции: 25 мкл.

⁵ Для образцов мокроты необходимо провести предобработку согласно разделу 6.

Программа ОТ-ПЦР и детекции

Цикл	Температура, °C	Время	Детекция по каналам для флуорофоров	Количество циклов
1	50	5 мин	–	1
2	95	1 с	–	10
	65	5 с		
3	95	1 с	FAM, R6G ⁶	32
	65	5 с		

7.2.9 Поместить пробирки с реакционной смесью и элюатом в амплификатор и запустить программу.

Примечание – Перед постановкой в амплификатор рекомендуется осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

8 УЧЁТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учёт результатов осуществляется с помощью программного обеспечения используемого амплификатора согласно инструкции по его применению.

Интерпретация результатов происходит на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции S-образной (сигмообразной) формы с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) значения порогового цикла (Ct) в соответствующей графе таблицы результатов.

Интерпретация результатов для исследуемых образцов указана в таблице 8.

Таблица 8

Интерпретация результатов для исследуемых образцов

Результат	Интерпретация
По каналу FAM значение Ct определено не больше граничного ⁷ . По каналу R6G значение Ct отсутствует.	РНК SARS-CoV-2 в образце <i>не выявлена</i> .
По каналу FAM определено любое значение Ct, или значение Ct отсутствует. По каналу R6G значение Ct определено не больше граничного.	РНК SARS-CoV-2 в образце <i>выявлена</i> .
По каналу FAM значение Ct определено больше граничного или отсутствует. По каналу R6G значение Ct отсутствует.	Невалидный результат

Результат исследования считают достоверным, если получены валидные результаты для контролей в соответствии с таблицей 9.

⁶ Сигнал от флуорофора R6G регистрируется по каналу детекции сигнала от аналогичных флуорофоров Нех и Джо.

⁷ Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора.

Критерии оценки для контролей

Контроль	Норма
ОК	По каналу FAM значение Ct определено не больше граничного ⁸ . По каналу R6G значение Ct отсутствует.
ПК	По каналу FAM значение Ct определено не больше граничного. По каналу R6G значение Ct определено не больше граничного.

9 ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ

Рекомендации по устранению возможных ошибок, получаемых для исследуемых образцов и контролей в процессе исследования с помощью набора, указаны в таблице 10.

Таблица 10

Рекомендации по устранению ошибок

Ошибка	Возможная причина возникновения	Рекомендации по устранению
Для ПК значение Ct по каналам FAM и/или R6G отсутствует или определено больше граничного ⁸ .	Некорректное проведение экстракции РНК и/или ОТ-ПЦР.	Повторить исследование для всех отрицательных образцов.
Для ОК по каналу FAM значение Ct отсутствует или определено больше граничного.	Некорректное проведение экстракции РНК и/или ОТ-ПЦР.	Повторить исследование для всех образцов.
Для ОК по каналу R6G определено значение Ct.	Контаминация реагентов или исследуемых образцов продуктами амплификации.	Предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить исследование для всех образцов.
Для исследуемого образца по каналу FAM значение Ct определено больше граничного или отсутствует, по каналу R6G значение Ct отсутствует.	Некорректное проведение экстракции РНК. Наличие в образце ингибиторов ОТ-ПЦР.	Повторить исследование данного исследуемого образца. В случае воспроизводимого результата рекомендуется повторное взятие и исследование биологического материала.

10 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**10.1 Контроли, используемые в процессе исследования**

Результаты исследования контролей должны соответствовать критериям оценки, указанным в разделе 8.

10.1.1 Отрицательный и положительный контроли

Каждая группа исследуемых образцов должна включать контрольные образцы:

- ОК для выявления контаминации в процессе проведения исследования;
- ПК SC2 для контроля корректного прохождения исследования.

10.1.2 Внутренний контроль

Для контроля качества исследования и оценки влияния ингибиторов на результаты

⁸ Граничные значения Ct указаны в кратком руководстве по применению набора.

амплификации используется экзогенный ВК, который добавляется в каждый исследуемый образец и контроли. Отсутствие результатов амплификации для ВК и одновременно для РНК вируса SARS-CoV-2 свидетельствует о присутствии ингибиторов ОТ-ПЦР в образце или некорректном проведении экстракции РНК.

10.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Для выявления возможной контаминации лаборатории продуктами амплификации, исследуемыми и контрольными образцами рекомендуется раз в месяц исследовать смывы с рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений согласно процедуре, указанной в МУ 1.3.2569-09. При обнаружении контаминации необходимо провести мероприятия по её устранению согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

10.3 Внутренний контроль качества лабораторных исследований

Рекомендуется проводить контроль качества выполнения исследований с использованием панелей контрольных образцов, предназначенных для проведения внутреннего и внешнего контролей качества лабораторных исследований по обнаружению РНК вируса SARS-CoV-2, либо сравнительным исследованием с использованием зарегистрированных в РФ наборов реагентов для качественного определения РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом ОТ-ПЦР.

11 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА⁹

11.1 Предел обнаружения

Предел обнаружения набора составляет 500 копий РНК SARS-CoV-2 в 1 мл исследуемого образца (95 % ДИ: 288–813 копий/мл).

11.2 Аналитическая специфичность

По анализу результатов *in silico* выбранные олигонуклеотиды позволяют гарантировано дифференцировать SARS-CoV-2 от SARS-CoV-1, Human coronavirus 229E, OC43, HKU1, NL63, MERS-coronavirus и других коронавирусов. При этом подобранные праймеры и зонды на 100 % совпадают с опубликованными последовательностями SARS-CoV-2, представленными в базах GISAID и NCBI по состоянию на 30 июля 2021 г.

Аналитическая специфичность набора оценивалась при тестировании микроорганизмов, указанных в таблице 11, и геномной ДНК человека. НК микроорганизмов исследовались в концентрациях, указанных в таблице 11, геномная ДНК человека - в концентрации 1 мкг/мл. По итогам тестирования ложноположительных результатов выявлено не было.

⁹ Заявленные аналитические характеристики набора, кроме аналитической специфичности, проверены с использованием стандартного образца предприятия, содержащего вектор со специфической последовательностью РНК SARS-CoV-2.

Микроорганизмы, используемые для оценки аналитической специфичности

Наименование	Концентрация	Наименование	Концентрация
Human Metapneumovirus (HM-1)	3,33·10 ⁴ TCID ₅₀ /мл	Respiratory syncytial virus (hRSV-1)	3,33·10 ⁴ TCID ₅₀ /мл
Parainfluenza virus типа 1 (Сендай)	3,33·lg ID ₅₀ /мл	<i>Haemophilus influenza</i> (ATCC® 49247™)	3,33·10 ⁵ КОЕ/мл
Influenza virus A (A/Anhui/1/2013 (H7N9))	3,33·10 ⁴ TCID ₅₀ /мл	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCC® 49619™)	3,33·10 ⁵ КОЕ/мл
Influenza virus B (B/Москва/46/2019)	1:32 ГАЕ	<i>Legionella pneumophila</i> (ATCC 33152)	1,67·10 ⁹ КОЕ/мл
Adenovirus типа 5	3,33·10 ⁴ TCID ₅₀ /мл	SARS-CoV-2 (ГК2020/1)	3,33·10 ⁶ копий/мл
Human Rhinovirus A (Рино/1а/ Ленинград/78)	3,33·10 ⁴ БОЕ/мл	SARS-CoV-2 (вариант «Омикрон», ГБК1343)	6,0·10 ⁸ ГЭ/мл
MERS-CoV	3,33·10 ⁴ БОЕ/мл	SARS-CoV-2 (вариант «Дельта», ГБК1338)	1,6·10 ⁹ ГЭ/мл

11.2.1 Потенциально интерферирующие вещества

Потенциально интерферирующие вещества (ингибиторы ОТ-ПЦР) и их максимальные концентрации в образце, для которых оценивалось их ингибирующее влияние на ОТ-ПЦР, перечислены в таблице 12.

Таблица 12

Потенциально интерферирующие вещества

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
Мазки из носоглотки и/или ротоглотки, мокрота	Раствор хлоргексидина	Хлоргексидин		0,25 %	
	Раствор Люголя с глицерином	Йод		0,1 %	
	Стоматофит®	Экстракт жидкий из смеси растительного сырья	Антисептическое средство для местного применения	1,5 %	10 % от рекомендованной дозы
	Мирамистин®	Бензилдиметил [3-(миристоиламино) пропил] аммоний хлорид моногидрат		0,001 %	
	Цельная кровь	–	Эндогенная субстанция	5 % v/v	Объём в образце в условиях «наихудшего случая»
	Муцин	Очищенный белок		5 % v/v	

Наличие возможного ингибирующего эффекта оценивалось двумя способами:

- путём проведения процедуры экстракции РНК SARS-CoV-2 с использованием набора реагентов «РНК-100» (ООО «Амплитек») из модельных образцов биологического материала, в которые добавлялись потенциальные интерференты в концентрациях согласно таблице 12 и стандартный образец предприятия, содержащий РНК вируса SARS-CoV-2 в концентрации 500 копий/мл. Далее с экстрагированными образцами проводили ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» с использованием набора реагентов «Amplitech SARS-CoV-2 (D)».

- методом «прямой» ОТ-ПЦР с модельными образцами биологического материала (мазки из носоглотки и/или ротоглотки) в транспортной среде «ТС (D)» (ООО «Ампитек»), в которые добавлялись потенциальные интерференты в концентрациях согласно таблице 12 и стандартный образец предприятия, содержащий РНК вируса SARS-CoV-2 в концентрации 500 копий/мл.

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально интерферирующих веществ на ОТ-ПЦР, проводимую с использованием набора «Amplitech SARS-CoV-2 (D)», отсутствует.

11.3 Прецизионность измерений

Коэффициент вариации повторяемости CV_n пороговых циклов (Ct), характеризующий внутрисерийную повторяемость измерений с использованием набора, не превышает 5 %.

Коэффициент вариации воспроизводимости CV_b пороговых циклов (Ct), характеризующий межсерийную воспроизводимость измерений с использованием набора, не превышает 10 %.

11.4 Диагностические характеристики

Значения диагностической чувствительности (ДЧ) и диагностической специфичности (ДС) набора с доверительной вероятностью 95 % указаны в таблице 13.

Таблица 13

Диагностические характеристики

Исследуемый материал	Количество образцов		ДЧ, %	ДС, %
	положит.	отрицат.		
Мазки из носоглотки	160	205	97,7–100	98,2–100
Мазки из ротоглотки	160	205	97,7–100	98,2–100
Мокрота	100	100	96,4–100	96,4–100

12 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

12.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 13 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора.

12.2 Хранение

Набор хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от солнечного света месте.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия.

12.3 Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 8 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах.

12.4 Эксплуатация

Реагенты, входящие в состав набора, готовы к использованию.

Повторное применение использованных для исследования реагентов не допускается.

Исследование образцов с использованием набора должно проводиться при температуре от 18 °С до 25 °С и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

13 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применены следующие сокращения:

Ct	– cycle threshold (пороговый цикл)
ВК	– внутренний контроль
ДИ	– доверительный интервал
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	– дезоксирибонуклеаза
ОК	– отрицательный контроль
ОТ	– обратная транскрипция
ПК	– положительный контроль
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
РНКаза	– рибонуклеаза

14 БИБЛИОГРАФИЯ

1. Taswell C. Limiting dilution assays for the determination of immunocompetent cell frequencies // J. Immunology, – 1981. – Vol. 126. – P. 1614-1619
2. Allen G. Rodrigo, Paul C. Goracke, Kiarash Rowhanian, James I. Mullins. Quantitation of target molecules from polymerase chain reaction-based limiting dilution assays // AIDS research and human retroviruses. – 1997. – Vol. 13 (9). – P. 737-742

15 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования

16 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении условий его транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора направлять в адрес производителя: ООО «Амплитек», 109235, Москва, ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42, тел. (495) 374-13-46, e-mail: support@amplitech.ru.

Сообщения о неблагоприятных событиях (инцидентах), возникших при работе с набором и не указанных в данной инструкции, следует направлять производителю по указанному выше адресу и в уполномоченный регуляторный орган согласно действующему законодательству.

17 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Консультацию по вопросам по работе с набором и его качеству можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: www.amplitech.ru.

18 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Изготовитель



Номер по каталогу



Дата изготовления



Код серии



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Использовать до



Обратитесь к инструкции по применению



Предел температуры



Содержимого достаточно для проведения тестов



Не допускать воздействия солнечного света



Общество с ограниченной ответственностью «Амплитек»
(ООО «Амплитек»),
Россия, 109235, Москва,
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42
тел. (495) 374-13-46, www.amplitech.ru,
e-mail: support@amplitech.ru