

АО «ГЕНЕРИУМ»
601125, Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский, ул. Заводская, стр. 273

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
АО «ГЕНЕРИУМ» Д.С. Талянский
«24» марта 2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro*

«Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом петлевой
изотермальной амплификации «МагниТест»»
по ТУ 21.20.23-096-26329720-2020

НАЗНАЧЕНИЕ

«Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом петлевой изотермальной амплификации «МагниТест»» по ТУ 21.20.23-096-26329720-2020 (далее по тексту – *набор реагентов*), предназначен для качественного выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в образцах, полученных из назальных и/или назофарингеальных мазков (далее по тексту – анализируемые образцы), методом петлевой изотермальной амплификации у лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания с подозрением на инфекцию COVID-19 (или у лиц, не имеющих признаков простудных заболеваний и не являющихся контактными с больными COVID-19).

Функциональное назначение: вспомогательное средство в диагностике *in vitro* (выявление РНК коронавируса SARS-CoV-2).

Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

Сокращенное наименование медицинского изделия для диагностики *in vitro*

«МагниТест»

ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Только для профессионального использования.

Сотрудники клиничко-диагностических лабораторий медицинских учреждений, специально обученные методам ПЦР в реальном времени.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

1 Состав набора реагентов

Набор реагентов предназначен для ручной постановки анализа или с помощью автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот (далее по тексту – автоматической станции).

Т а б л и ц а 1 - Комплектность набора реагентов

| Наименование | Количество |
|--|---|
| <i>Компоненты</i> | |
| «К+» – положительный контроль – прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300 | 1 пробирка (100 мкл) |
| «К-» – отрицательный контроль – прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300 | 1 пробирка (100 мкл) |
| «РС» – реакционная смесь – прозрачная бесцветная жидкость, при хранении может приобретать цвет от желтого до коричневого, что не влияет на качество. Консерванты: 0,1 % проклин 300 | 2 пробирки (по 1,5 мл) |
| «Фермент» – Vst-полимераза – прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300 | 1 пробирка (220 мкл) |
| «ЛБ» – лизирующий буфер – прозрачная бесцветная или светло-желтого цвета жидкость с магнитными частицами. Допускается расслоение на надосадочную жидкость и осадок магнитных частиц. Допускается выпадение кристаллов и хлопьев белого цвета. Консервант: 0,1 % проклин 300 | 1 флакон (28 мл) |
| «РП» – раствор для преципитации – прозрачная бесцветная жидкость | 1 флакон (31 мл) |
| «ПР-1» – промывочный раствор-1 – прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300 | 1 флакон (55 мл) или 2 флакона (по 30 мл) |
| «ПР-2» – промывочный раствор-2 – прозрачная бесцветная жид- | 1 флакон (22 мл) |

| | |
|--|-----------------|
| кость | |
| «ЭР» – элюирующий раствор – прозрачная бесцветная жидкость. Консервант: 0,1 % проклин 300 | 1 флакон (7 мл) |
| Планшет 96-луночный для проведения ПЦР | 1 шт. |
| Пленка для ПЦР планшета 96-луночного | 1 шт. |
| <i>Эксплуатационная документация</i> | |
| Инструкция по применению набора реагентов | 1 шт. |

Примечание

Паспорт на серию входит в комплект поставки набора реагентов. Число экземпляров паспорта каждой серии, определено в договоре на поставку продукции.

2 Число анализируемых образцов биологического материала

Набор реагентов предназначен для выполнения 96 определений, включая контрольные образцы.

3 Принцип метода

Для определения наличия или отсутствия инфекционных агентов в биологических жидкостях человека проводят амплификацию генетического материала возбудителя инфекции. Помимо широко распространенного метода амплификации нуклеиновых кислот полимеразной цепной реакцией на сегодняшний день применяется петлевая изотермальная амплификация. В основе данной методики лежит реакция синтеза нуклеиновых кислот с вытеснением цепи, катализируемая Bst-полимеразой из термофильной бактерии *Bacillus stearothermophilus*.

Отличительными особенностями петлевой изотермальной амплификации является проведение реакции при постоянной температуре 60 – 65 °С, быстрое накопление продуктов реакции (15 – 60 мин), возможность совмещения реакции с обратной транскрипцией (оба процесса осуществляется одним ферментом, Bst-полимеразой), низкой чувствительностью к примесям, возможность использования в качестве исходной матрицы кровь или другие биологические жидкости.

Выявление наличия или отсутствия РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологических жидкостях человека включает в себя две стадии: экстракцию РНК коронавируса SARS-CoV-2 из анализируемых образцов с последующей сорбцией на магнитные частицы, отмывкой и элюцией и петлевую изотермальную амплификацию, с использованием специфических олигонуклеотидных последовательностей и модифицированной Bst-полимеразы из термофильной бактерии *Bacillus stearothermophilus*.

Для контроля анализа в наборе реагентов предусмотрены контрольные образцы: «К+» и «К-».

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Контрольные образцы «К+» и «К-» используются для контроля проведения реакции петлевой изотермальной амплификации при выявлении РНК коронавируса SARS-CoV-2 в анализируемых образцах.

«К-» (Отрицательный контроль), представляет собой раствор, НЕ содержащий плазмиду со вставкой фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2.

«К+» (Положительный контроль), представляет собой раствор, содержащий плазмиду со вставкой фрагмента РНК коронавируса SARS-CoV-2 в концентрации не менее 10 000 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца. Метрологическая прослеживаемость «К+» была обеспечена флуориметрическим методом раствора для приготовления «К+» и дальнейшим его последовательным разведением до нужной концентрации РНК SARS-CoV-2.

«РС» (Реакционная смесь), представляет собой смесь специфических олигонуклеотидных последовательностей в необходимом для проведения реакции буферном растворе.

«Фермент» (Bst-полимераза), представляет собой раствор фермента Bst-полимеразы в необходимом для проведения реакции буферном растворе.

«ЛБ», представляет собой буферный раствор с магнитными частицами для лизирования вируса.

«РП» представляет собой раствор для осаждения нуклеиновых кислот на магнитные частицы.

«ПР-1» представляет собой буферный раствор для промывки магнитных частиц от остатков «ЛБ» и «РП».

«ПР-2» представляет собой раствор для промывки магнитных частиц от остатков «ПР-1».

«ЭР» представляет собой буферный раствор для смывания нуклеиновых кислот с поверхности магнитных частиц.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

1 Чувствительность

Чувствительность набора реагентов определяли с использованием рабочей панели образцов «РП МТ-РНК(+/-)SARS-CoV-2», содержащих стабилизированный фрагмент РНК коронавируса SARS-CoV-2, (далее по тексту – рабочая панель образцов), аттестованной отделом биологического и технологического контроля (далее по тексту – ОБТК), ООО «Медико-биологический Союз». Чувствительность набора реагентов с образцами рабочей панели без ложноотрицательных результатов должна быть не менее 100 %.

2 Предел обнаружения

Предел обнаружения (LoD) набора реагентов определяли с использованием рабочей панели образцов, аттестованной ОБТК ООО «Медико-биологический Союз» и Стандарт «SARS-CoV-2 Standard» производства Exact Diagnostics LLC (Bio-Rad).

Предел обнаружения для всех типов анализируемых образцов набора реагентов составляет 1000 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца при выделении РНК коронавируса SARS-CoV-2 с использованием компонентов набора реагентов «МагниТест» и с использованием «ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛУС», производства ООО «НПО ДНК-Технология» (см. раздел «Подготовка анализируемых образцов»).

3 Диагностическая чувствительность

Диагностическую чувствительность выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 определяли в ходе клинико-лабораторных испытаний на 99 положительных образцах, показана 100 % чувствительность (97,02%, интервал (95,1-100,0) %, с доверительной вероятностью 95%).

4 Специфичность

Специфичность набора реагентов определяли с использованием рабочей панели образцов, аттестованной ОБТК ООО «Медико-биологический Союз». Специфичность набора реагентов с образцами рабочей панели без ложноположительных результатов должна быть не менее 100 %.

5 Диагностическая специфичность

Диагностическую специфичность выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 определяли в ходе клинико-лабораторных испытаний на 149 отрицательных образцах, показана 100 % специфичность (98,01%, интервал (96,3-100,0) %, с доверительной вероятностью 95%).

6 Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность набора реагентов проверялась *in silico* со следующими инфекционными агентами:

| | |
|--------------------------|---|
| Коронавирус 229Е | Риновирус |
| Коронавирус OC43 | Параэховирус |
| Коронавирус HKU1 | <i>Candida albicans</i> |
| Коронавирус NL63 | <i>Corynebacterium diphtheriae</i> |
| SARS-коронавирус | <i>Legionella pneumophila</i> |
| MERS- коронавирус | <i>Bacillus anthracis</i> (Anthrax) |
| Аденовирус | <i>Moraxella catarrhalis</i> |
| Метапневмовирус человека | <i>Neisseria elongata</i> and <i>Neisseria meningitidis</i> |
| Парагрипп первого типа | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Парагрипп второго типа | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| Парагрипп третьего типа | <i>Streptococcus salivarius</i> |

| | |
|--|------------------------------------|
| Парагрипп четвертого типа | <i>Leptospira sp.</i> |
| Грипп типа А | <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> |
| Грипп типа В | <i>Chlamydomphila psittaci</i> |
| Грипп типа С | <i>Coxiella burnetii</i> (Q-Fever) |
| Энтеровирус | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| Респираторный синцитиальный вирус типа А | <i>Haemophilus influenzae</i> |
| Респираторный синцитиальный вирус типа В | <i>Legionella pneumophila</i> |
| <i>Bordetella pertussis</i> | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | <i>Streptococcus pneumoniae</i> |
| <i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP) | <i>Streptococcus pyogenes</i> |

Для анализа использовали он-лайн доступные ресурсы: BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), а также MUSCLE (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>).

Среди протестированных организмов, только для SARS-коронавируса показана гомология с фрагментом последовательности участка SARS-CoV-2, которая составляет 82%. С такой степенью гомологии невысока вероятность получения какого-либо значимого сигнала в представленной диагностической системе.

Гомология праймеров составила 100% для всех последовательностей SARS-CoV-2, представленных в GenBank по состоянию на 07 сентября 2020 года. Для всех других проанализированных микроорганизмов гомология не обнаружена.

Аналитическая специфичность набора реагентов проверялась *in vitro* на базе ООО «МБС-Технология» на: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, вирус парагриппа, вирус гриппа А, Аденовирус, Вирус гриппа В, Метапневмовирус, Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), Риновирус, *Legionella pneumophila*.

Максимальные концентрации исследованных организмов, при которых они не влияют на эффективность изделия:

| Инфекция | Концентрация |
|--|----------------------------|
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 | 1x10 ⁶ КОЕ/мл |
| <i>Haemophilus influenzae</i> № 3689 | 1x10 ⁶ КОЕ/мл |
| Вирус парагриппа тип 1 | 1x10 ³ БОЕ/мл |
| Вирус гриппа А H1N1 | 1x10 ⁵ БОЕ/мл |
| Вирус гриппа В Victoria | 1x10 ⁵ БОЕ/мл |
| Аденовирус Ad26 | 1x10 ³ копий/мл |
| Метапневмовирус HM-1 | 1x10 ⁵ БОЕ/мл |
| Респираторно- синцитиальный вирус A2 | 1x10 ⁵ БОЕ/мл |
| Риновирус JH2060 | 1x10 ⁵ БОЕ/мл |
| <i>Legionella pneumophila</i> ATCC 33152 | 1x10 ⁶ КОЕ/мл |

Проведенные анализы *in silico* и *in vitro* указывают на то, что неспецифическая амплификация, которая могла бы привести к перекрестной реакции или повлиять на амплификацию целевого участка SARS-CoV-2, крайне маловероятна.

7 Воспроизводимость

Внутрисерийная воспроизводимость анализа была протестирована в ходе клинико-лабораторных испытаний с использованием девяти положительных образцов, полученных из назальных и/или назофарингеальных мазков в 5 повторах на наборах реагентов одной серии. Коэффициент вариации не превысил 10 %.

Межсерийная воспроизводимость анализа была протестирована в ходе клинико-лабораторных испытаний с использованием девяти положительных образцов, полученных из назальных и/или назофарингеальных мазков на 2 сериях набора реагентов. Коэффициент вариации не превысил 10 %.

8 Интерферирующие вещества

Наличие эндогенных интерферирующих веществ: муцина (до 5 % vv) или цельной крови (до 5 % vv) в назальных и/или назофарингеальных мазках не влияют на результат анализа.

Наличие экзогенных интерферирующих веществ: хлоргексидина (0,5 % vv) или хлорида натрия

(до 1 % v/v) или оксиметазолина (до 10 мг/л) или фенилэфрина (до 5% v/v) или дексаметазона (до 100 мг/л) или α -интерферона (до 100 МЕ/мл) или левофлоксацина (до 0,4 г/л) или азитромицина (до 1 г/л) или арбидола (до 0,2 г/л) в назальных и/или назофарингеальных образцах, не влияют на результат анализа.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора реагентов – класс 3 в соответствии с Приказом МЗ РФ №4н от 06.06.2012 г. «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий».

При работе с набором реагентов следует соблюдать ГОСТ Р 52905, МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19», «Инструкция по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (Утв. МЗ СССР 17 января 1991 г.).

Лаборатории, выполняющие исследования по выявлению РНК SARS-CoV-2, обязаны обеспечивать безопасность работы в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

При работе необходимо выполнять следующие требования:

– следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные и при работе с ними должны учитываться требования СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)». Сбор клинического материала и его упаковку должен осуществлять работник медицинской организации, обученный требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность микроорганизмами II группы патогенности. Каждый образец клинического материала должен быть помещён в отдельную транспортную емкость в соответствии с МР 3.1.0169-20 «Организация лабораторной диагностики COVID-19».

– при удалении пробирок, содержащих продукты ПЦР, недопустимо их открывание и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов;

– применять набор реагентов строго по назначению, согласно данной инструкции;

– допускать к работе с набором реагентов только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, давший письменное согласие и прошедший инструктаж, проведенный сотрудниками лабораторий Роспотребнадзора, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных заболеваний человека II группы патогенности, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности и получившими дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики (методам ПЦР в реальном времени).

– перевозка образцов должна осуществляться в соответствии с требованиями санитарного законодательства по отношению к микроорганизмам II группы патогенности». Медицинские работники, которые собирают или транспортируют клинические образцы в лабораторию, должны быть обучены практике безопасного обращения с биоматериалом, строго соблюдать меры предосторожности и использовать средства индивидуальной защиты (СИЗ).

– не использовать набор реагентов по истечении срока годности.

Компоненты набора «К+», «К-», «Фермент», «РС», «ЛБ», «ПР-1», «ЭР» содержат в качестве консерванта 0,1 % проклина 300.

Гуанидин гидрохлорид, входящий в состав «ЛБ», обладает раздражающим действием. Использовать только в хорошо вентилируемом помещении! Избегать разбрызгивания, вдыхания, проглатывания и попадания компонента на кожу, слизистые и в глаза! Избегать попадания в окружающую среду!

Изопропиловый спирт, входящий в состав «РП», «ПР-1», «ПР-2» и ацетон, входящий в состав «ПР-2», обладают раздражающим действием. Использовать только в хорошо вентилируемом помещении! Избегать разбрызгивания, вдыхания, проглатывания и попадания компонента на кожу, слизистые и в глаза! Беречь от источников воспламенения / нагревания / искр / открытого огня! При пожаре тушить огнетушителями на основе диоксида углерода, порошковым средством

для тушения или водяной струей мелкого разбрызгивания. При борьбе с крупными пожарами применять водяную струю мелкого разбрызгивания или спиртоустойчивую пену. Полноструйная вода НЕ пригодна для тушения!

При проглатывании компонентов набора реагентов прополоскать полость рта, обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии. НЕ вызывать рвоту! При вдыхании компонентов набора реагентов выйти на свежий воздух, обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии. При попадании компонентов набора реагентов на кожу и/или одежду немедленно снять всю загрязненную одежду, промыть кожу проточной водой, обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии. При попадании компонентов набора реагентов в глаза осторожно промыть глаза проточной водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы (при наличии), если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться за медицинской помощью!

Все компоненты набора реагентов в используемых концентрациях и объёмах, являются нетоксичными при условии использования набора реагентов по назначению с соблюдением всех мер предосторожности.

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты (блузон, брюки, халат, шапочку, тапочки или сабо, очки защитные, полумаску, одноразовые перчатки, нарукавники одноразовые).

Все использованные материалы, инструменты и оборудование, рабочие поверхности дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения». Материалы, подлежащие обеззараживанию, подвергать обработке дезсредствами, разрешенными для применения на территории РФ. Инструменты и оборудование, а также поверхности, на которых проводился анализ, обработать дезсредствами, разрешенными для применения на территории РФ, например, раствором этилового спирта (ГОСТ Р 51652) с объемной долей 70 % в течение 10 секунд.

Обеззараживание и/или обезвреживание и утилизацию всех анализируемых образцов, компонентов и отходов набора реагентов, несущих потенциальную биологическую опасность, производить в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При ручной постановке анализа необходимо нижеперечисленное оборудование:

- амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (далее по тексту - амплификатор): «CFX96» («Bio-Rad», США), «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия); «ДТлайт» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), «Rotor Gene» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия);
- бокс абактериальной воздушной среды 2-го класса биологической защиты или ПЦР-бокс;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 25 °С до 98 °С;
- холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С, и холодильник с морозильной камерой, поддерживающей температуру до минус 20 °С;
- таймер/часы;
- вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (при наличии);
- одноканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 0,5 до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 %;
- многоканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей

от 0,5 до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 %;(при наличии);

- центрифуга лабораторная типа Vortex (далее по тексту – вортекс);
- микроцентрифуга лабораторная для пробирок типа эппендорф (при наличии);
- микроцентрифуга лабораторная для ПЦР-планшета (при наличии);
- магнитный штатив для пробирок типа эппендорф объемом 1,5-2,0 мл.

При постановке анализа на автоматической станции необходимо:

- автоматическая станция для выделения нуклеиновых кислот с принадлежностями для ПЦР исследований: процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex, «Термо Фишер Сайентифик Ой», Финляндия;
- амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (далее по тексту - амплификатор): «CFX96» («Bio-Rad», США), «ДТпрайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия); «ДТлайт» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), «Rotor Gene» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия);
- бокс абактериальной воздушной среды 2-го класса биологической защиты или ПЦР-бокс;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 25 °С до 98 °С (при необходимости);
- холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С, и холодильник с морозильной камерой, поддерживающей температуру до минус 20 °С;
- таймер/часы;
- вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (при необходимости);
- одноканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 0,5 до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 % (при необходимости);
- многоканальные полуавтоматические дозаторы пипеточные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 0,5 до 200 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов, погрешность измерения которых должна быть не более 3 % (при наличии);
- центрифуга лабораторная типа Vortex (далее по тексту – вортекс) (при необходимости);
- микроцентрифуга лабораторная для пробирок типа эппендорф (при необходимости);
- микроцентрифуга лабораторная для ПЦР-планшета (при необходимости);
- магнитный штатив для пробирок типа эппендорф объемом 1,5-2,0 мл (при необходимости).

Для работы с набором реагентов необходимы следующие материалы:

- одноразовые наконечники с аэрозольным барьером (фильтром) для полуавтоматических одноканальных дозаторов;
- одноразовые наконечники для полуавтоматических одноканальных дозаторов пипеточных;
- пробирки стерильные одноразовые полипропиленовые (типа эппендорф) вместимостью 1,5 – 2,0 мл;
- пробирки стерильные одноразовые полипропиленовые (типа эппендорф) вместимостью 0,2 мл (при необходимости);
- пробирки и пластик для амплификатора типа «Rotor Gene» (при необходимости);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные;
- нарукавники одноразовые;
- контейнер для сбора и обеззараживания наконечников;

- штатив для пробирок;
- глубоководные планшеты для выделения нуклеиновых кислот (при необходимости);
- «Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) по ТУ 9398-035-46482062-2009 в двух формах комплектации: комплект ПРОБА-НК и комплект ПРОБА-НК-ПЛЮС», производства ООО «НПО ДНК-Технология», Рег. удостоверение № ФСР 2010/08867 (при необходимости).

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Идентификацию и прослеживаемость проб пациента (назальные, назофарингеальные мазки слизистой верхних дыхательных путей) проводить в соответствии с системой менеджмента качества лаборатории.

Взятие, упаковку, хранение и транспортирование анализируемых образцов осуществлять согласно МР 3.1.0169-20 «Организация лабораторной диагностики 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», «Временным методическим рекомендациям по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-nCoV) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)» и рекомендациям ВОЗ (WHO. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases Interim guidance 19 March 2020).

Перед постановкой анализа анализируемые образцы, хранившиеся в морозильной камере, необходимо разморозить. Все образцы перед внесением в «ЛБ» необходимо аккуратно перемешать.

Не допускается повторное замораживание/оттаивание образцов.

ПРИЧИНЫ СНИЖЕНИЯ ПРАВИЛЬНОСТИ И ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Использование компонентов набора реагентов с истекшим сроком годности.

Использование компонентов из наборов реагентов разных серий или смешивание их в процессе приготовления растворов.

Использование компонентов из наборов реагентов других производителей.

Несоблюдение условий и сроков хранения невскрытых компонентов набора реагентов.

Несоблюдение условий и сроков хранения вскрытых компонентов набора реагентов.

Неправильное дозирование растворов, которое приводит как к росту, так и к снижению регистрируемой флуоресценции.

Изменение концентрации раствора за счет испарения жидкости из открытого флакона с компонентом.

Недостаточное перемешивание компонентов набора реагентов.

Использование для работы с компонентами, анализируемыми и контрольными образцами грязных наконечников.

Неправильная утилизация ПЦР-плашек и/или пробирок после проведения реакции может приводить к контаминации лаборатории и, как следствие, получению ложноположительных результатов в дальнейших постановках.

Недостаточно быстрое и/или недостаточное охлаждение образцов после выделения и перед внесением в ПЦР-смесь может приводить к неспецифической амплификации и, как следствие, получению ложноположительных результатов.

Замораживание набора реагентов, особенно компонента «Фермент».

Использование для дезинфекции посуды, оборудования, материалов и рабочих поверхностей неразрешенных и/или оказывающих влияния на результат изотермальной петлевой амплификации дезсредств. Рекомендуется использовать, например, хлорамин, другие хлорсодержащие средства или перекись водорода.

Рекомендуется использовать перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные и нарукавники одноразовые.

Проведение анализа в неблагоприятных условиях окружающей среды, например, при температуре воздуха, в лаборатории выше 25 °С и относительной влажности воздуха более 70 %.

ПОДГОТОВКА ОБОРУДОВАНИЯ

Для проведения анализа с помощью набора реагентов с использованием амплификатора, необходимо его подготовить **заранее** в соответствии с руководством по эксплуатации.

ВНИМАНИЕ! Если в амплификаторе предусмотрен дополнительный нагрев крышки, то ее необходимо нагреть заранее.

Для проведения выделения необходимо заранее включить нагрев термостата твердотельного до 65°С.

ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

ВНИМАНИЕ! При работе с набором реагентов и анализируемыми образцами необходимо использовать одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free. Для манипуляций с набором реагентов и анализируемыми образцами использовать одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером.

Из анализируемых образцов необходимо выделить РНК. Выделение РНК можно провести двумя методами: **Метод 1** – Выделение РНК с использованием компонентов набора реагентов и **Метод 2** – Выделение РНК с использованием «ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛИУС», производства ООО «НПО ДНК-Технология». **Метод 1** включает в себя варианты выделения РНК вручную и выделение РНК на автоматической станции.

Выделение РНК коронавируса SARS-CoV-2

При ручном выделении

Метод 1. Выделение РНК с использованием компонентов набора реагентов

1.1 Извлечь из коробки набора реагентов «ЛБ», «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР», проверить целостность упаковки и срок годности каждого компонента набора реагентов. При обнаружении повреждения или при истечении срока годности компоненты набора реагентов следует обработать в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению. Оставшиеся компоненты набора реагентов («К+», «К-», «РС», «Фермент») убраться в холодильник. Перед применением все вышеперечисленные компоненты («ЛБ», «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР») инкубировать при комнатной температуре (от 17 до 27 °С) в течение 15 минут, затем аккуратно перемешать содержимое флаконов (кроме «ЛБ»). При наличии в «ЛБ» кристаллического осадка или хлопьев необходимо инкубировать «ЛБ» при 65 °С до полного растворения осадка.

1.2 Промаркировать количество пробирок типа эппендорф вместимостью 1,5-2,0 мл по количеству анализируемых образцов.

1.3 Перемешать «ЛБ» вручную, вращая флакон между ладонями в течение 20 с или на вортексе, до равномерного распределения магнитных частиц в объеме раствора. Внести пипеточным дозатором по 250 мкл «ЛБ» в каждую пробирку.

ВНИМАНИЕ! Необходимо периодически встряхивать «ЛБ» для перемешивания магнитных частиц во время разнесения его по пробиркам.

1.4 Перед выделением анализируемые образцы, хранившиеся в морозильной камере, необходимо разморозить. Все образцы перед внесением в «ЛБ» необходимо аккуратно перемешать.

1.5 Подготовленные анализируемые образцы встряхнуть на вортексе, осадить капли с крышки пробирки (для этого возможно использование центрифугирования в течение 1-3 секунд), затем, отобрать по 50 мкл, добавить в пробирки с «ЛБ» и аккуратно перемешать содержимое пробирки пипетированием 3-5 раз.

Внимание! Необходимо использовать каждый раз новый одноразовый наконечник с аэрозольным барьером, для каждого анализируемого образца во избежание контаминации.

1.6 Инкубировать пробирки в твердотельном термостате при температуре 65 °С в течение 10 минут.
Внимание! Для пп. 1.7 – 1.13 рекомендуется открывать крышку только той пробирки, с которой идет работа, и сразу закрывать её после проведения манипуляции. НЕ открывать сразу несколько пробирок, для исключения контаминации!

1.7 После инкубации в каждую пробирку добавить по 300 мкл «РП» одноразовым наконечником и аккуратно перемешать содержимое пробирки пипетированием 3-5 раз.

1.8 Инкубировать пробирки в течение 10 минут при комнатной температуре. **Во время инкубации крышки пробирок должны быть закрыты! НЕ СТАВИТЬ пробирки в магнитный штатив во время инкубации!**

1.9 Поместить пробирки в магнитный штатив, выдержать 1-2 минуты для формирования осадка магнитных частиц, затем, не извлекая пробирки из магнитного штатива, убрать надосадочную жидкость из пробирок с помощью вакуумного отсасывателя или пипеточного дозатора, не задевая осадок магнитных частиц.

ВНИМАНИЕ! *Использовать отдельный одноразовый наконечник с аэрозольным барьером для каждого анализируемого образца.*

Важно! В пп. 1.9-1.13, добавленный раствор должен полностью покрывать магнитные частицы жидкостью.

1.10 Внести 500 мкл «ПР-1» в пробирку. **НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ!** Убрать раствор «ПР-1» пипеточным дозатором или вакуумным отсасывателем из пробирки, не задевая осадок магнитных частиц, и держа пробирку в магнитном штативе. Закрывать пробирку.

1.11 Внести 200 мкл «ПР-2» в пробирку. **НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ!** Убрать раствор «ПР-2» пипеточным дозатором или вакуумным отсасывателем из пробирки, не задевая осадок магнитных частиц, и держа пробирку в магнитном штативе.

1.12 Пробирки с открытыми крышками поставить в твердотельный термостат и подсушить осадок магнитных частиц при температуре 65 °С в течение 5 минут.

1.13 **Во все пробирки** добавить на дно по 50 мкл «ЭР». **НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ!** Проверить, что «ЭР» полностью покрывает осадок магнитных частиц. Закрывать пробирки.

1.14 Инкубировать пробирки в твердотельном термостате при температуре 65 °С в течение 10 минут.

1.15 После инкубации аккуратно перемешать образцы на вортексе в течение 2-3 секунд и отцентрифугировать пробирки в течение 2-3 секунд, для осаждения капель с крышки. **Поставить в магнитный штатив для формирования осадка магнитных частиц!**

Образцы выделенной РНК готовы для постановки петлевой изотермальной амплификации.

ВНИМАНИЕ! Отбирать образец выделенной РНК для постановки ПЦР необходимо аккуратно, стараясь избежать попадания магнитных частиц в наконечник дозатора пипеточно-

го.
ВНИМАНИЕ! *Образцы выделенной РНК хранить при температуре 2-8 °С не более 30 минут. Заморозка образцов выделенной РНК или более длительное хранение при температуре 2-8 °С может приводить к получению ложноотрицательных результатов.*

При постановке анализа на автоматической станции необходимо

1.1 Перед постановкой анализа анализируемые образцы, хранившиеся в морозильной камере, необходимо разморозить. Все образцы перед внесением в «ЛБ» необходимо аккуратно перемешать.

1.2 Извлечь из коробки набора реагентов «ЛБ», «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР», проверить целостность упаковки и срок годности каждого компонента набора реагентов. При обнаружении повреждения или при истечении срока годности компоненты набора реагентов следует обработать в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению. Оставшиеся компоненты набора реагентов («К+», «К-», «РС», «Фермент») убрать в холодильник. Перед применением все вышеперечисленные компоненты («ЛБ», «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР») инкубировать при комнатной температуре (от 17 до 27 °С) в течение 15 минут, затем ак-

куратно перемешать содержимое флаконов (кроме «ЛБ»). При наличии в «ЛБ» кристаллического осадка или хлопьев необходимо инкубировать «ЛБ» при 65 °С до полного растворения осадка.

1.3 При работе на автоматической дозирующей станции использовать глубоководные штативы для выделения нуклеиновой кислоты.

1.4 Внесение анализируемых образцов:

вручную:

- поместить растворы «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР» в предназначенные для них емкости автоматической дозирующей станции;
- подготовленные анализируемые образцы встряхнуть на вортексе, осадить капли с крышки пробирки (для этого возможно использование центрифугирования в течение 1-3 секунд), отобрать вручную по **50 мкл анализируемых образцов и добавить** в лунки глубоководного планшета.
Внимание! Необходимо использовать каждый раз новый одноразовый наконечник с аэрозольным барьером, для каждого анализируемого образца во избежание контаминации.
- затем перемешать «ЛБ» вручную, вращая флакон между ладонями в течение 20 с или на вортексе, до равномерного распределения магнитных частиц в объеме раствора. Внести пипеточным дозатором по **250 мкл «ЛБ»** в каждую лунку глубоководного планшета и аккуратно перемешать содержимое пробирки пипетированием 3-5 раз (при необходимости).
ВНИМАНИЕ! Необходимо периодически встряхивать «ЛБ» для перемешивания магнитных частиц во время разнесения его по пробиркам.
Внимание! Необходимо использовать каждый раз новый одноразовый наконечник с аэрозольным барьером, для каждого анализируемого образца во избежание контаминации.
- задать программу выделения РНК, пользуясь приведенной ниже схемой (пункт 3 таблицы 2 - «Инкубация и перемешивание»).

автоматическое внесение анализируемых образцов:

Перед постановкой анализа анализируемые образцы, хранившиеся в морозильной камере, необходимо разморозить. Все образцы перед внесением в «ЛБ» необходимо аккуратно перемешать.

- поместить растворы «ЛБ», «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР» в предназначенные для них емкости автоматической дозирующей станции;
- подготовленные анализируемые образцы встряхнуть на вортексе, осадить капли с крышки пробирки (для этого возможно использование центрифугирования в течение 1-3 секунд), поместить их в штативы для образцов;
- задать программу проведения выделения РНК, пользуясь приведенной ниже схемой в таблице 2.

Т а б л и ц а 2 - Схема выделения РНК на автоматической дозирующей станции открытого типа

| № пп | Наименование процедуры | Описание процедуры |
|------|---------------------------|---|
| 1 | Внесение образцов | внести в лунки – по 50 мкл анализируемых образцов |
| 2 | Внесение «ЛБ» | внести в лунки – по 250 мкл «ЛБ», в процессе данной процедуры необходимо перемешивать ЛБ в емкости |
| 3 | Инкубация и перемешивание | термостатирование в течение 10 мин при температуре 65 °С, в ходе инкубации перемешивать с частотой вращения 1200 об/мин в течение 30 с каждые 3 минуты. |
| 4 | Внесение «РП» | внести в лунки – по 300 мкл «РП» |
| 5 | Перемешивание | перемешать с частотой вращения 600 об/мин в течение 30 секунд |
| 6 | Инкубация | инкубация в течение 10 мин при комнатной температуре |

| | | |
|----|---|--|
| 7 | Выдерживание в магнитном штативе | перенос планшета на магнитный штатив и выдерживание в течение 1 минуты |
| 8 | Удаление надосадочной жидкости | удаление надосадочной жидкости из лунок, не задевая осадок магнитных частиц. <i>Внимание! Планшет должен быть в магнитном штативе</i> |
| 9 | Внесение | внести в лунки – по 500 мкл «ПР-1», при внесении перемешать пипетированием 2 раза |
| 10 | Удаление надосадочной жидкости | удаление раствора «ПР-1» из лунок, не задевая осадок магнитных частиц. <i>Внимание! Планшет должен быть в магнитном штативе.</i> |
| 11 | Внесение | внести в лунки – по 200 мкл «ПР-2», при внесении перемешать пипетированием 2 раза |
| 12 | Удаление надосадочной жидкости | удаление раствора «ПР-2» из лунок, не задевая осадок магнитных частиц. <i>Внимание! Планшет должен быть в магнитном штативе</i> |
| 13 | Высушивание | термостатирование в течение 5 мин при температуре 65 °С |
| 14 | Внесение «ЭР» | внести в лунки – по 50 мкл «ЭР», при внесении перемешать пипетированием 2 раза |
| 15 | Инкубация и перемешивание | термостатирование в течение 10 мин при температуре 65 °С, в ходе инкубации перемешивать с частотой вращения 1200 об/мин в течение 30 с каждые 3 минуты. Перенести планшет на магнитный штатив |
| 16 | Перенос выделенной РНК в ПЦР планшет | перенести по 10 мкл из глубоководного планшета в ПЦР планшет. <i>Внимание! Пробирки должны быть в магнитном штативе.</i> |

Образцы выделенной РНК готовы для постановки петлевой изотермальной амплификации.
*ВНИМАНИЕ! Образцы выделенной РНК хранить при температуре 2-8 °С не более 30 минут.
Заморозка образцов выделенной РНК или более длительное хранение при температуре 2-8 °С может приводить к получению ложноотрицательных результатов.*

Метод 2. Выделение РНК с использованием «ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС», производства ООО «НПО ДНК-Технология»

Процедуру выделения провести в соответствии с инструкцией по применению на медицинское изделие.

ПОДГОТОВКА КОМПОНЕНТОВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМАЛЬНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

Вскрыть упаковку с оставшимися компонентами набора реагентов («К+», «К-», «РС», «Фермент»). Пробирки с компонентами набора реагентов проверить на целостность и срок годности. При обнаружении повреждения или при истечении срока годности компоненты набора реагентов следует обработать в соответствии с разделом «Утилизация набора реагентов» настоящей инструкции по применению.

Компоненты набора реагентов готовы к использованию.

Перед применением оставшиеся компоненты набора реагентов - «К+» и «К-» (кроме «РС» и «Фермент») инкубировать при комнатной температуре до достижения комнатной температуры,

аккуратно перемешать и осадить капли с крышки пробирки, возможно для этого использование центрифугирования в течение 1-3 секунд.

Хранение: неиспользованные и вскрытые компоненты хранить при температуре (2-8) °С в течение срока годности набора реагентов. Неиспользованный «РС» хранить в защищенном от света месте, поместив в пакет из комбинированного материала или в непрозрачный черный пакет с замком zip-lock, сразу после приготовления реакционной смеси.

ВНИМАНИЕ! *Запрещается хранение компонентов «РС» и «Фермент» при комнатной температуре, а также хранение «РС» на свету.*

ПРОВЕДЕНИЕ ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМАЛЬНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

Петлевую изотермальную амплификацию можно провести ручным способом постановки анализа или с помощью автоматической станции.

При ручной постановке анализа

ВНИМАНИЕ! *При работе с набором реагентов и образцами выделенной РНК необходимо использовать одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free. Для манипуляций с реагентами, образцами выделенной РНК и контрольными образцами использовать одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером*

ВНИМАНИЕ! *Компоненты реакционной смеси («РС» и «Фермент») смешивать непосредственно перед проведением анализа*

| | | |
|--|---|--|
| <p>Подготовка планшета 96-луночного</p> | <p>Достать планшет 96-луночный из пакета с zip-lock. Рассчитать количество лунок в соответствии с количеством образцов выделенной РНК и контрольных образцов, исходя из того, что каждый образец выделенной РНК будет анализироваться в одном повторе.</p> <p>Расчет количества лунок производится по формуле: Количество лунок (N) = n + 2, где n – количество образцов выделенной РНК, 2 – «К+» и «К-»</p> <p>При необходимости промаркировать лунки планшета, согласно идентификационному номеру анализируемого образца.</p> <p>Планшет поместить на ледяную баню или хладагент (Внимание! не замораживать).</p> <p>Дополнительно рекомендуется использовать крио-штативы для того, чтобы реакционная смесь в планшете не нагревалась выше 2-8 °С.</p> <p>Для возможности одновременной работы двух лаборантов и с целью соблюдения временного интервала 10-15 минут до конца внесения образцов, рекомендуется разделить планшет на 2 части по 48 лунок (количество лунок (N) для каждого! лаборанта считать по формуле выше).</p> <p>Важно! При каждой постановке анализа необходимо использовать контрольные образцы «К+» и «К-».</p> | |
| <p>ВНИМАНИЕ! <i>В зависимости от используемого оборудования для проведения анализа надписи на планшете следует располагать таким образом, чтобы они не мешали детектированию флуоресцентного сигнала. См. руководство по эксплуатации амплификатора</i></p> | | |
| <p>Приготовление реакционной смеси</p> | <p>В пробирке вместимостью 1,5 – 2,0 мл для приготовления реакционной смеси смешать холодные! компоненты «РС» и «Фермент», из расчета на необходимое число лунок, согласно приведенной ниже таблице. Перемешать приготовленный раствор на вортексе и осадить капли с крышки пробирки кратким центрифугированием (1-3 с).</p> <p>Приготовленную реакционную смесь не хранить, использовать сразу же после приготовления!</p> | |
| <p>Название компонента</p> | <p>Объем реагента на один образец (без учета контрольных образцов)</p> | <p>Объем реагента для анализа n образцов выделенной РНК с учетом постановки кон-</p> |

| | | |
|-----------|--------|--------------------------|
| | | <i>трольных образцов</i> |
| «РС» | 28 мкл | $(N + 1) * 28$ мкл |
| «Фермент» | 2 мкл | $(N + 1) * 2$ мкл |

Пример: Количество образцов выделенной РНК – 5 шт.

$$N = 5 + 2 = 7.$$

*Следовательно, необходимо смешать: $(7 + 1) * 28$ мкл = 224 мкл «РС»*

*и $(7 + 1) * 2 = 16$ мкл «Фермент»*

| | |
|---|--|
| Внесение реакционной смеси | В каждую промаркированную лунку 96-луночного планшета (холодного!) внести по 30 мкл холодной! реакционной смеси (или возможно использование микропробирок типа эппендорф вместимостью 0,2 мл с крышкой) |
| Внесение образцов в лунки 96-луночного планшета или в пробирки для амплификатора «Rotor Gene» | В каждую промаркированную лунку 96-луночного планшета (или в пробирку для амплификатора «Rotor Gene») внести по 10 мкл подготовленных <i>образцов выделенной РНК</i> , затем в предпоследнюю и последнюю - по 10 мкл контрольных образцов «К+» и «К-», соответственно. Важно! Для каждого образца выделенной РНК и контрольных образцов использовать новый наконечник и с помощью него перемешать пипетированием содержимое лунки 3-5 раз. Не допускать образование пузырей! Отрезать фрагмент подходящего размера от входящей в набор реагентов пленки для ПЦР планшета 96-луночного и плотно! наклеить его на промаркированные лунки, используя для этого аппликатор. Пленка приклеивается к краям лунок при надавливании. Перед постановкой в амплификатор рекомендуется осадить капли со стенок лунок. Важно! Необходимо герметично заклеить планшет, чтобы не происходило испарение во время амплификации, во избежание получения ложноположительных результатов, а также избежание контаминации лаборатории. |
| ВНИМАНИЕ! Планшет с реакционной смесью и образцами выделенной РНК незамедлительно поместить в заранее подготовленный амплификатор и запустить программу! При невозможности использования крио-штативов допускается внесение готовой реакционной смеси в пробирку с уже внесенным образцом для того, чтобы реакционная смесь не нагревалась выше $2-8^{\circ}\text{C}$ более 20 минут. При этом в каждую пробирку реакционная смесь прибавляется отдельным наконечником с фильтром и с помощью него перемешивается пипетированием содержимое лунки 3-5 раз. Не допускать образование пузырей! Важно! Если в амплификаторе предусмотрен дополнительный нагрев крышки, то ее необходимо нагреть заранее. | |
| Регистрация результатов анализа | Выполнить в соответствии с разделом «Процедурой измерения и оценки результата» |

При постановке анализа на автоматической станции необходимо

ВНИМАНИЕ! При работе с набором реагентов и образцами выделенной РНК необходимо использовать одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free. Для манипуляций с реагентами, образцами выделенной РНК и контрольными образцами использовать одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси («РС» и «Фермент») смешивать непосредственно перед проведением анализа

Внесении приготовленной смеси «РС» и «Фермент» возможно в ручном режиме. Для этого использовать протокол как при ручной постановке анализа.

В случае внесения смеси самой автоматической станцией:

Подготовка | Достать планшет 96-луночный из пакета с zip-lock. Рассчитать количество

| | | |
|--|---|---|
| <p>планшета луночного 96-</p> | <p>лунок в соответствии с количеством образцов выделенной РНК и контрольных образцов, исходя из того, что каждый образец выделенной РНК будет анализироваться в одном повторе. Расчет количества лунок производится по формуле: Количество лунок (N) = n + 2, где n – количество образцов выделенной РНК, 2 – «К+» и «К-» Планшет поместить на ледяную баню или хладагент (Внимание! не замораживать). Дополнительно рекомендуется использовать крио-штативы для того, чтобы реакционная смесь в планшете не нагревалась выше 2-8 °С</p> | |
| <p>Приготовление реакционной смеси</p> | <p>В пробирке вместимостью 1,5 – 2,0 мл для приготовления реакционной смеси смешать холодные! компоненты «РС» и «Фермент», из расчета на необходимое число лунок, согласно приведенной ниже таблице. Перемешать приготовленный раствор на вортексе и осадить капли с крышки пробирки кратким центрифугированием (1-3 с)</p> | |
| <p><i>Название компонента</i></p> | <p><i>Объем реагента на один образец (без учета контрольных образцов)</i></p> | <p><i>Объем реагента для анализа n образцов выделенной РНК с учетом постановки контрольных образцов</i></p> |
| <p>«РС»</p> | <p>28 мкл</p> | <p>(N + 1) * 28 мкл</p> |
| <p>«Фермент»</p> | <p>2 мкл</p> | <p>(N + 1) * 2 мкл</p> |
| <p><i>Пример: Количество образцов выделенной РНК – 5 шт.</i> $N = 5 + 2 = 7.$</p> | | |
| <p><i>Следовательно, необходимо смешать: $(7 + 1) * 28 \text{ мкл} = 224 \text{ мкл}$ «РС» и $(7 + 1) * 2 = 16 \text{ мкл}$ «Фермент»</i></p> | | |
| <p>Внесение «К+» и «К-» в лунки 96-луночного планшета</p> | <p>в предпоследнюю - 10 мкл «К+»; в последнюю - 10 мкл «К-».</p> | |
| <p>Внесение реакционной смеси</p> | <p>внести в лунки холодного! ПЦР планшета с выделенной РНК - по 30 мкл холодной! реакционной смеси, при внесении перемешать пипетированием 3 раза</p> | |
| <p>Запаивание планшета</p> | <p>Вынуть подготовленный ПЦР планшет из автоматической дозирующей станции. Плотно! наклеить пленку для ПЦР планшета 96-луночного, используя для этого аппликатор. Пленка приклеивается к краям лунок при надавливании. Перед постановкой в амплификатор рекомендуется осадить капли со стенок лунок. Важно! Необходимо герметично заклеить планшет, чтобы не происходило испарение во время амплификации, во избежание получения ложноположительных результатов, а также избежание контаминации лаборатории.</p> | |
| <p>ВНИМАНИЕ! Планшет с реакционной смесью и образцами выделенной РНК незамедлительно поместить в заранее подготовленный амплификатор и запустить программу! Важно! Если в амплификаторе предусмотрен дополнительный нагрев крышки, то ее необходимо нагреть заранее.</p> | | |
| <p>Регистрация результатов анализа</p> | <p>Выполнить в соответствии с разделом «Процедурой измерения и оценки результата»</p> | |

Процедура измерения и оценка результата

Ввести в амплификатор программу проведения петлевой изотермальной амплификации и детекции флуоресцентных сигналов:

Условия реакции:

| | |
|--|---|
| «CFX96» «ДТпрайм» «ДТлайт» «Rotor Gene» | 50 циклов с измерением флуоресценции на канале SYBR (FAM) каждые 30 секунд Температура 65 °С Суммарное время амплификации 42 минуты |
|--|---|

Для детектирования следует выбирать зеленый канал детекции SYBR (FAM).

Запрограммировать положение лунок с контрольными образцами и образцами выделенной РНК согласно инструкции к прибору.

Поместить планшет с реакционной смесью и образцами выделенной РНК в амплификатор.

Запустить программу и провести петлевую изотермальную амплификацию с флуоресцентной регистрацией в режиме реального времени.

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Условия правильности работы набора реагентов

В положительном контроле «К+» прибор:

– должен определять нарастание сигнала флуоресценции в канале SYBR (FAM).

В отрицательном контроле «К-» прибор

– НЕ должен: фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале SYBR (FAM).

В анализируемом образце, при наличии РНК коронавируса (положительный образец) SARS-CoV-2, прибор:

– должен фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале SYBR (FAM) и определять значение порогового цикла Ct (пересечение кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией) в канале SYBR (FAM).

В анализируемом образце, НЕ содержащем РНК коронавируса SARS-CoV-2 (отрицательный образец), прибор

– НЕ должен: фиксировать нарастание сигнала флуоресценции в канале SYBR (FAM) и определять Ct в канале SYBR (FAM).

Учет результатов анализа

Для отрицательного контроля «К-»: значение Ct в канале SYBR (FAM) НЕ должно определяться.

Если для «К-» значение Ct менее 50 циклов (для «CFX96»; «ДТпрайм»; «ДТлайт»; «Rotor Gene»), то это свидетельствует о наличии контаминации в системе. В этом случае результаты по данной постановке считаются недостоверными. Требуется предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации и повторить анализ всех образцов данной постановки, для которых получен положительный результат. Образцы данной постановки, анализ которых дал отрицательный результат, следует учитывать, как отрицательные.

Для положительного контроля «К+»: значение Ct в канале SYBR (FAM) должно быть менее 50 циклов.

Внимание! При внесении реакционной смеси в лунки без анализируемых образцов, в данных лунках могут наблюдаться ложноположительные результаты.

Интерпретация результатов анализа

Если в анализируемом образце значение Ct в канале SYBR (FAM) не определяется или составляет более 50 циклов (для «CFX96»; «ДТпрайм»; «ДТлайт»; «Rotor Gene»), анализируемый образец считать **отрицательным**, то есть не содержащим РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Если в анализируемом образце значение Ct в канале SYBR (FAM) составляет менее 50 (для «CFX96»; «ДТпрайм»; «ДТлайт»; «Rotor Gene»), анализируемый образец считать **положительным**, то есть содержащим РНК коронавируса SARS-CoV-2.

Краткая схема интерпретации результатов анализа

| Значение Ct в канале SYBR (FAM) | Вывод |
|---|--|
| для «CFX96»; «ДТпрайм»; «ДТлайт»; «Rotor Gene»: менее 50 циклов | анализируемый образец – положительный , то есть содержит РНК коронавируса SARS-CoV-2 |
| для «CFX96»; «ДТпрайм»; «ДТлайт»; «Rotor Gene»: не определяется или более 50 циклов | анализируемый образец – отрицательный , то есть не содержит РНК коронавируса SARS-CoV-2 |

ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

Для определения наличия или отсутствия РНК коронавируса SARS-CoV-2, рекомендуется использовать назальные и/или назофарингеальные мазки в транспортной среде, так как РНК коронавируса SARS-CoV-2 может не выявляться в других клинических образцах.

Отрицательные результаты не исключают возможность инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2 и не должны использоваться в качестве единственной основы для принятия решения о лечении пациентов.

Отрицательные результаты должны сочетаться с клиническими наблюдениями, историей болезни и эпидемиологической информацией.

Тест не определяет наличие коронавируса SARS-CoV-2, если концентрация коронавируса ниже предела обнаружения теста – 1000 копий РНК коронавируса SARS-CoV-2 на 1 мл образца.

УТИЛИЗАЦИЯ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

В процессе использования и утилизации набора реагентов с истекшим сроком годности токсичные отходы не образуются.

Отходы, образующиеся в процессе использования и утилизации набора реагентов с истекшим сроком годности, относить к классу Б.

Набор реагентов с истекшим сроком годности утилизировать как отходы класса Б.

Обращение (сбор, временное хранение, обеззараживание и/или обезвреживание и транспортирование) отходов, образующихся в процессе использования и утилизации набора реагентов с истекшим сроком годности, проводить согласно СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Для обеззараживания и/или обезвреживания отходов в соответствии с МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» использовать зарегистрированные в РФ дезинфицирующие средства и оборудование в соответствии с инструкциями по их применению.

Отходы утилизировать через организации, имеющие лицензию на этот вид деятельности.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

Срок годности набора реагентов - 6 месяцев.

Сроки годности вскрытых компонентов набора реагентов - в течение срока годности набора реагентов.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Набор реагентов хранить в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 «Условия транспортирования и хранения иммунобиологических лекарственных препаратов» при температуре от 2 до 8 С в защищенном от света месте. Не замораживать. Беречь от источников воспламенения!

Транспортирование набора реагентов производить в соответствии с СП 3.3.2.3332-16 при температуре от 2 до 8 С.

Набор реагентов не замораживать.

Условия применения набора реагентов:

- температура окружающей среды (15 – 25) °С;
- относительная влажность воздуха (не более 70) %;

– атмосферное давление (84,0 – 106,7) кПа / (630 – 800) мм. рт. ст.

ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие выпускаемого набора реагентов требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки набора реагентов, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил применения, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить набор реагентов, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления набора реагентов производителем.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, обращаться в АО «ГЕНЕРИУМ» по адресу: 601125, Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский, ул. Заводская, стр. 273.

Тел./ф. +7 (49243)72-5-20, 72-5-14.

Символы, применяемые для маркировки компонентов набора реагентов

| Символ | Наименование символа | Символ | Наименование символа |
|---|---|---|--|
| ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 | | | |
|  | Для диагностики in vitro |  | Код партии |
|  | Содержимого достаточно для 96 тестов |  | Использовать до |
|  | Не использовать повторно |  | Температурный диапазон |
|  | Беречь от влаги |  | Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению |
|  | Не использовать при повреждённой упаковке |  | Не допускать воздействия солнечного света |
| ГОСТ 31340-2013 | | | |
| Место нанесения: «ЛБ» |  | «Восклицательный знак» | Сигнальное слово: «Опасно» H302: Вредно при проглатывании H332: Вредно при вдыхании |
| |  | «Жидкость, выливающаяся из двух пробирок, поражающая металл и руку» | Место нанесения: «ЛБ» H314: При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги H402: Вредно для водных организмов H413: Может вызвать долгосрочные отрицательные последствия для водных организмов |
| Место нанесения: «РП», «РР-1», «РР-2» |  | «Пламя» | Сигнальное слово: «Опасно» H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение |
| |  | «Восклицательный знак» | H336: Может вызывать сонливость и головокружение |

Дата создания 12.03.2021 г.

Краткая схема анализа при ручной постановке анализа
набора реагентов «МагниТест»

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси («РС» и «Фермент») смешивать непосредственно перед проведением анализа для предотвращения получения ложных результатов

1 ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

- 1 Инкубировать «ЛБ», «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР» при комнатной температуре 15 минут. При наличии в «ЛБ» кристаллического осадка/хлопьев инкубировать при 65 °С до полного растворения осадка.
- 2 Ввести программу в амплификатор.
Для «CFX96», «ДТпрайм», «ДТлайт», «Rotor Gene»: 50 циклов по 30 секунд с измерением флуоресценции на канале SYBR (FAM) каждые 30 секунд при 65 °С.
Если в амплификаторе предусмотрено, то не забыть прогреть крышку

2 ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА ДЛЯ ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМАЛЬНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

- Рассчитать необходимое количество лунок (N):
 $N = n + 2$, где n – количество образцов выделенной РНК (см. п. 3); 2 – «К+» и «К-»
Планшет поместить на ледяную баню или хладагент (Внимание! не замораживать).

3 ВЫДЕЛЕНИЕ РНК ИЗ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

- 1 Если анализируемые образцы заморожены, предварительно разморозить их.
- 2 Анализируемые образцы интенсивно перемешать.
- 3 В чистый новый эппендорф добавить 250 мкл «ЛБ», периодически встряхивая «ЛБ», и 50 мкл анализируемого образца, аккуратно перемешать пипетированием 3-5 раз.
- 4 Инкубировать 10 минут при 65 °С.
- 5 Добавить 300 мкл «РП», аккуратно перемешать пипетированием 3-5 раз.
- 6 Инкубировать 10 минут при комнатной температуре. НЕ СТАВИТЬ в магнитный штатив!
- 7 Поместить пробирки в магнитный штатив, выдержать 1-2 минуты, убрать надосадочную жидкость из пробирок, не задевая осадок магнитных частиц.
Важно! При добавлении растворов из пп. 8-11, магнитные частицы всегда должны быть полностью покрыты жидкостью.
- 8 Внести по 500 мкл «ПР-1» в каждую пробирку. НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ! Убрать «ПР-1», не задевая осадок магнитных частиц, и держа пробирки в магнитном штативе. Закрыть пробирку.
- 9 Внести по 200 мкл «ПР-2» в каждую пробирку. НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ! Убрать «ПР-2», не задевая осадок магнитных частиц, и держа пробирки в магнитном штативе.
- 10 Пробирки с открытыми крышками инкубировать в твердотельном термостате при температуре 65 °С в течение 5 минут.
- 11 Добавить на дно пробирок по 50 мкл «ЭР». НЕ ПЕРЕМЕШИВАТЬ! Проверить, что «ЭР» полностью покрывает магнитные частицы. Закрыть пробирки.
- 12 Инкубировать пробирки в твердотельном термостате при температуре 65 °С в течение 10 минут.
- 13 Аккуратно перемешать образцы на вортексе в течение 2-3 секунд и отцентрифугировать пробирки в течение 2-3 секунд.
- 14 Образцы, выделенной РНК поставить на магнитный штатив.
- 15 Хранить при 2 - 8 °С не более 30 минут.

4 ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ВНЕСЕНИЕ РЕАКЦИОННОЙ СМЕСИ В ПЛАНШЕТ ДЛЯ ПЦР

- 1 Инкубировать «К+» и «К-» при комнатной температуре до достижения комнатной температуры, аккуратно перемешать и осадить капли с крышки пробирки.
- 2 Внести в чистый новый эппендорф холодные! компоненты «РС» и «Фермент» в следующих объемах:
Объем «РС» = $(N + 1) * 28$ мкл; объем «Фермент» = $(N + 1) * 2$ мкл, где N - количество лунок (из пункта 2)
В пропорции 28:2
Приготовленную реакционную смесь не хранить, использовать сразу же после приготовления!
- 3 Внести в каждую лунку холодного! планшета по 30 мкл холодной! приготовленной реакционной смеси

5 ВНЕСЕНИЕ ОБРАЗЦОВ ВЫДЕЛЕННОЙ РНК И КОНТРОЛЕЙ («К+» И «К-»)

- 1 В лунки планшета внести по 10 мкл образцов выделенной РНК (см. п. 3).
Для каждого образца выделенной РНК использовать новый наконечник и с помощью него пипетировать содержимое лунки.
- 2 Аккуратно открыть пробирки с «К+» и «К-» (для исключения контаминации) и внести в предпоследнюю и последнюю лунки планшета - по 10 мкл контрольных образцов, используя новый наконечник и с помощью него пипетировать содержимое лунки
- 3 Заклеить планшет пленкой

7 Постановка в амплификатор

Планшет незамедлительно поставить в амплификатор с уже введенной программой и начать проведение анализа!

8 Интерпретация результатов

Для «CFX96»; «ДТпрайм», «ДТлайт», «Rotor Gene»:

«К+» Ct меньше 50

«К-» Ct не определяется

положительный образец - Ct меньше 50

отрицательный образец - Ct не определяется или более 50

Внимание! При внесении реакционной смеси в лунки без анализируемых образцов, в данных лунках могут наблюдаться ложноположительные результаты

Примечание

При нарушении условий проведения анализа возможно получение ложноположительного сигнала. **Критическим моментом является нагревание приготовленной реакционной смеси до момента запуска реакции.** При нагревании приготовленной реакционной смеси происходит активация полимеразы и начало неспецифического синтеза. Это может приводить как к синтезу неспецифической РНК и получению ложноположительного сигнала. Кроме того, активация полимеразы может приводить и к преждевременному истощению компонентов приготовленной реакционной смеси (как правило, нуклеотидов), и, как следствие, получению ложноотрицательных результатов, в том числе и при положительном контроле.

Краткая схема при автоматической постановке анализа
набора реагентов «МагниТест»

ВНИМАНИЕ! Компоненты реакционной смеси («РС» и «Фермент») смешивать непосредственно перед проведением анализа для предотвращения получения ложных результатов

1 ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ

1 Инкубировать «ЛБ», «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР» при комнатной температуре 15 минут. При наличии в «ЛБ» кристаллического осадка/хлопьев инкубировать при 65 °С до полного растворения осадка.

2 Ввести программу в амплификатор.

Для «CFX96»; «ДТпрайм», «ДТлайт», «Rotor Gene»: 50 циклов по 30 секунд с измерением флуоресценции на канале SYBR (FAM) каждые 30 секунд при 65 °С.

Если в амплификаторе предусмотрено, то не забыть прогреть крышку

2 ПОДГОТОВКА ПЛАНШЕТА ДЛЯ ПЕТЛЕВОЙ ИЗОТЕРМАЛЬНОЙ АМПЛИФИКАЦИИ

Рассчитать необходимое количество лунок (N):

$N = n + 2$, где n – количество образцов выделенной РНК (см. п. 3); 2 – «К+» и «К-»

Планшет поместить на ледяную баню или хладагент (Внимание! не замораживать).

3 ВЫДЕЛЕНИЕ РНК ИЗ АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Внесение образцов вручную:

1 Если анализируемые образцы заморожены, предварительно разморозить.

2 Залить растворы «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР» в емкости автоматической дозирующей станции.

3 Анализируемые образцы встряхнуть на вортексе и осадит капли с крышки пробирки.

4 Отобрать вручную по 50 мкл анализируемых образцов и добавить в лунки глубоководного планшета.

5 Внести вручную по 250 мкл «ЛБ» в каждую лунку глубоководного планшета, периодически встряхивая «ЛБ», и аккуратно перемешать пипетированием 3-5 раз.

6 Задать программу выделения РНК на автоматической дозирующей станции, начиная с третьего пункта Программы

Программа выделения РНК

1 Внести в лунки по 50 мкл анализируемых образцов.

2 Внести в лунки по 250 мкл «ЛБ», в процессе данной процедуры необходимо перемешивать ЛБ в емкости.

3 Термостатирование в течение 10 мин при температуре 65 °С, в ходе инкубации перемешивать с частотой вращения 1200 об/мин в течение 30 с каждые 3 минуты.

4 Внести в лунки по 300 мкл «РП».

5 Перемешать с частотой вращения 600 об/мин в течение 30.

6 Инкубация в течение 10 мин при комнатной температуре.

7 Перенос планшета на магнитный штатив и выдерживание в течение 1 минут.

8 Удаление надосадочной жидкости из лунок, не задевая осадок магнитных частиц.

Внимание! Планшет должен быть в магнитном штативе.

9 Внести в лунки по 500 мкл «ПР-1», при внесении перемешать пипетированием 2 раза.

10 Удаление раствора «ПР-1» из лунок, не задевая осадок магнитных частиц.

Внимание! Планшет должен быть в магнитном штативе.

11 Внести в лунки по 200 мкл «ПР-2», при внесении перемешать пипетированием 2 раза.

12 Удаление раствора «ПР-2» из лунок, не задевая осадок магнитных частиц.

Внимание! Планшет должен быть в магнитном штативе.

13 Термостатирование в течение 5 мин при температуре 65 °С.

14 Внести в лунки – по 50 мкл «ЭР», при внесении перемешать пипетированием 2 раза.

15 Термостатирование в течение 10 мин при температуре 65 °С, в ходе инкубации перемешивать с частотой вращения 1200 об/мин в течение 30 с каждые 3 минуты. Перенести планшет в магнитный штатив.

16 Перенести по 10 мкл из глубоководного планшета в ПЦР планшет.

Внимание! Пробирки должны быть в магнитном штативе.

17 Образцы выделенной РНК хранить при 2 - 8 °С не более 30 минут.

Автоматическое внесение образцов:

1 Если анализируемые образцы заморожены, предварительно разморозить.

2 Залить растворы «ЛБ», «РП», «ПР-1», «ПР-2» и «ЭР» в емкости автоматической дозирующей станции.

3 Анализируемые образцы встряхнуть на вортексе и осадит капли с крышки пробирки.

4 Поместить анализируемые образцы в штатив для образцов.

5 Задать программу проведения выделения РНК на автоматической дозирующей станции.

4 ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ВНЕСЕНИЕ РЕАКЦИОННОЙ СМЕСИ В ПЛАНШЕТ ДЛЯ ПЦР

Внесение приготовленной смеси «РС» и «Фермент» возможно в ручном режиме. Для этого использовать протокол как при ручной постановке анализа.

1 Инкубировать «К+» и «К-» при комнатной температуре до достижения комнатной температуры, аккуратно перемешать и осадить капли с крышки пробирки.

2 Внести в чистый новый эппендорф холодные! компоненты «РС» и «Фермент» в следующих объемах:

Объем «РС» = $(N + 1) * 28$ мкл; объем «Фермент» = $(N + 1) * 2$ мкл, где N - количество лунок (из пункта 2)

В пропорции 28:2

3 Внести в каждую лунку холодного! планшета по 30 мкл холодной! приготовленной реакционной смеси

5 ВНЕСЕНИЕ КОНТРОЛЕЙ («К+» И «К-») И РЕАКЦИОННОЙ СМЕСИ

1 Аккуратно открыть пробирки с «К+» и «К-» (для исключения контаминации) и внести в предпоследнюю и последнюю лунки планшета - по 10 мкл контрольных образцов, используя новый наконечник и с помощью него пипетировать содержимое лунки

2 Внести в лунки холодного! планшета с выделенной РНК - по 30 мкл холодной! реакционной смеси, при внесении перемешать пипетированием 3 раза.

3 Вынуть подготовленный планшет из автоматической дозирующей станции.

4 Плотно! наклеить пленку для планшета 96-луночного, используя для этого аппликатор.

Важно! Необходимо герметично заклеить планшет, чтобы не происходило испарение во время амплификации, во избежание получения ложноположительных результатов, а также избежание контаминации лаборатории.

7 Постановка в амплификатор

Платшет незамедлительно поставить в амплификатор с уже введенной программой и начать проведение анализа!

8 Интерпретация результатов

Для «CFX96», «ДТпрайм», «ДТлайт», «Rotor Gene»:

«К+» Ct меньше 50

«К-» Ct не определяется

положительный образец - Ct меньше 50

отрицательный образец - Ct не определяется или более 50

Внимание! При внесении реакционной смеси в лунки без анализируемых образцов, в данных лунках могут наблюдаться ложноположительные результаты

Примечание

При нарушении условий проведения анализа возможно получение ложноположительного сигнала. Критическим моментом является нагревание приготовленной реакционной смеси до момента запуска реакции. При нагревании приготовленной реакционной смеси происходит активация полимеразы и начало неспецифического синтеза. Это может приводить как к синтезу неспецифической РНК и получению ложноположительного сигнала. Кроме того, активация полимеразы может приводить и к преждевременному истощению компонентов приготовленной реакционной смеси (как правило, нуклеотидов), и, как следствие, получению ложноотрицательных результатов, в том числе и при положительном контроле.

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

«август» 2021 г.

Пролито пронумеровано скреплено
печатью на (23) листах
Генеральный директор
АО «ГЕНЕРИУМ»

