ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

Служба клиентской поддержки:
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный)
E-mail: hotline@dna-technology.ru,
www.dna-technology.ru

778 2022-11-10

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2022/18677 от 31 октября 2022 года

⚠ **В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов SARS-CoV-2 Лайт.**

Перед началом работы изучите инструкцию.

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

REF **R3-P446-S3/9 (Фасовка S, стрипы)**

Информация о наборе реагентов

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

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

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

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

Время проведения анализа: от 1,5 часов.

Количество исследуемых образцов:

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

Состав набора реагентов:

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

Таблица 1 - Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex
Коронавирус SARS-CoV-2, гены E, RdRP	ВК[1]

[1] - Внутренний контрольный образец (РНК-ВК)

Проведение анализа

ВНИМАНИЕ!

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

1 Подготовка и проведение реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции

ВНИМАНИЕ!

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

1.1 Промаркируйте по одной стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого исследуемого образца, отрицательного контрольного образца (К–) и положительного контрольного образца (К+).

Пример: Необходимо проанализировать 6 образцов. Нужно промаркировать 6 пробирок для исследуемых образцов, одну для «К-» и одну для «К+». Общее количество пробирок – 8.

1.2 Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-вортексе содержимое пробирок «ОТ-ПЦР-буфер», «Фермент Taq/RT», «РНК-ВК» и центрифугируйте в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
ВНИМАНИЕ! Фермент Taq/RT необходимо вынимать из морозильной камеры непосредственно перед использованием.

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

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

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

1.4 Тщательно перемешайте на микроцентрифуге-вортексе содержимое пробирки с приготовленной смесью и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.
Смесь можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного часа.

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

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

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

1.7 Внесите в соответствующие пробирки для исследуемых образцов, не повреждая слой парафина, по 10 мкл образца биоматериала, взятого в транспортную среду, или полученного из образцов препарата РНК.

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

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

1.10 Центрифугируйте стрипы в течение 3–5 с на микроцентрифуге-вортексе.
ВНИМАНИЕ! ОТ-ПЦР необходимо провести СРАЗУ после приготовления реакционных смесей с внесёнными образцами биологического материала. Не допускается хранение подготовленных пробирок до проведения исследования.

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

При использовании приборов серии ДТ: запустите программное обеспечение RealTime_PCR в режиме «Работа с прибором». При первом проведении ПЦР загрузите готовый файл с параметрами теста «SARS2_Lite». При последующих постановках добавьте в протокол соответствующий тест, укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе положительного и отрицательного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР. Программы амплификации для приборов CFX96 и Applied Biosystems Quant Studio 5 приведены в таблицах 2, 3.

2 **Регистрация и учёт результатов ОТ-ПЦР** проводится автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов. Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицей 4. При использовании детектирующих амплификаторов CFX96 (Bio-Rad) следует использовать регрессионный тип анализа (Cq Determination Mode: Regression). При использовании детектирующих амплификаторов Applied Biosystems Quant Studio 5 («Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.») в настройках алгоритма необходимо выбрать «Относительный порог», в настройках Ct начальный цикл базовой линии «1», конечный цикл базовой линии «40».

Таблица 2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96 (Bio-Rad)

№ блока (Step)	Температура, °С	Время мин:сек	Количество циклов (повторов)
1	60	05:00	1
2	94	01:00	1
3	94	0:10	5
4	59	0:10	
5	67	0:10	
6	94	0:05	40
7	59 √	0:10	
8	64	0:10	
√- режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по каналам Fam и Hex при 59 °С			

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов Applied Biosystems Quant Studio 5 («Лайф Текнолоджис Холдингс Пте. Лтд.»)

Стадия	№ шага	Температура, °С	Время мин:сек	Количество циклов (повторов)
Стадия удержания	1	60	05:00	1
	2	94	01:00	1
Стадия ПЦР	1	94	0:10	5
	2	59	0:10	
	3	67	0:10	
Стадия ПЦР	1	94	0:05	40
	2	59 √	0:10	
	3	64	0:10	
√-сбор данных для флуорофоров Fam, Hex включен				

Т а б л и ц а 4 - Интерпретация результатов исследования

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

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов. Допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера до 25 °С не более 5 суток.
Все компоненты набора реагентов, за исключением фермента Taq/RT следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.
Стрипы со смесью для амплификации, запечатанной парафином, следует хранить в защищённом от света месте.
Фермент Taq/RT следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.
По вопросам, касающимся качества набора реагентов SARS-CoV-2 Лайт, следует обращаться в службу клиентской поддержки.
Служба клиентской поддержки: 8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).
E-mail: hotline@dna-technology.ru, www.dna-technology.ru

Символы, используемые при маркировке набора реагентов

IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Обратитесь к инструкции по применению
	Предел температуры (Температурный диапазон)		Изготовитель
	Использовать до	LOT	Код партии (Код серии набора)
	Не допускать воздействие солнечного света	NON STERILE	Нестерильно
REF	Номер по каталогу	Σ	Содержимого достаточно для проведения *n* тестов (Количество определений)
	Дата изготовления		