

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Фрактал Био»



Погода А.А.

«08» 09 2020 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из
клинических образцов «ФБиоНуклео» по ТУ 21.20.23-001-83881765-2020 в
вариантах исполнения.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов «ФБиоНуклео» по ТУ 21.20.23-001-83881765-2020 в вариантах исполнения предназначен для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из клинического материала человека (плазма крови с антикоагулянтами K_2 ЭДТА, K_3 ЭДТА, гепарином и цитратом натрия, сыворотка крови, мокрота, моча, слюна, ликвор, эякулят, секрет предстательной железы, мазки и смывы из полости носа и ротоглотки, соскобы эпителиальных клеток с задней стенки глотки, соскобы эпителиальных клеток со слизистой цервикального канала, уретры, прямой кишки и фекалии и др.) методом полимеразной цепной реакции. Получаемый образец пригоден для диагностики с применением методов амплификации нуклеиновых кислот.

1.2 Выделение ДНК и РНК — важный шаг подготовки проб перед биохимическими и диагностическими процессами. Многие приложения, такие как полимеразная цепная реакция, проведение обратной транскрипции, детектирование накопления продуктов амплификации методом ПЦР в реальном времени, клонирование, сиквенс, гибридизация, синтез ДНК и т. д., не могут быть выполнены непосредственно на биологических образцах без предварительной очистки нуклеиновых кислот.

1.3. Окончательный диагноз должен быть поставлен врачом после полного клинического и лабораторного обследования пациента.

1.4. Набор предназначен для диагностики *in vitro*.

1.5. Область применения - **клиническая лабораторная диагностика**. Потенциальным потребителем является медицинский персонал клиничко-диагностических лабораторий.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗДЕЛИЯ

2.1 Принцип действия

В растворе, содержащем хаотропную соль — гуанидин тиоционат, происходит лизис клеточных систем и денатурация белков. При высокой концентрации соли нуклеиновые кислоты связываются с силикатной мембраной. После удаления соли этанол-содержащим буфером осуществляется отмывка нуклеиновых кислот от солей и ингибиторов.

Противопоказанием к применению набора является нарушение целостности упаковки, истекший срок годности, не соблюдение требований инструкции.

Внимание! В работе необходимо использовать компоненты строго из одной серии Набора реагентов. Запрещается использование отдельных компонентов, относящихся к разным сериям Набора реагентов.

2.2. В состав набора входят:

- Центрифужные колонки с собирающими пробирками;
- Собирающие пробирки;
- Буфер ПГ (лизирующий буфер);
- Буфер ОБ (осаждающий буфер);
- Буфер П1 (промывочный буфер);

- Буфер П2 (промывочный буфер);
- Буфер П3 (промывочный буфер);
- Буфер ЕБ (элюирующий буфер);
- Инструкция по применению.

Набор выпускается в 4 вариантах исполнения:

Комплект 1 (Кат. № НК-1-50+):

- Центрифужные колонки с собирающими пробирками – 1 упаковка 50 шт;
- Собирающие пробирки – 1 упаковка 50 шт;
- Буфер ПГ – 1 флакон 17,5 мл;
- Буфер ОБ – 1 флакон 25 мл;
- Буфер П1 – 1 флакон 24 мл;
- Буфер П2 – 1 флакон 8,75 мл;
- Буфер П3 – 1 флакон 8,75 мл;
- Буфер ЕБ – 1 флакон 13 мл;
- Инструкция по применению.

Комплект 2 (Кат. № НК-1- 100+):

- Центрифужные колонки с собирающими пробирками – 2 упаковки по 50 шт;
- Собирающие пробирки – 2 упаковки по 50 шт;
- Буфер ПГ – 1 флакон 37 мл;
- Буфер ОБ – 1 флакон 50 мл;
- Буфер П1 – 1 флакон 48 мл;
- Буфер П2 – 1 флакон 17,5 мл;
- Буфер П3 – 1 флакон 17,5 мл;
- Буфер ЕБ – 1 флакон 30 мл;
- Инструкция по применению.

- Комплект 3 (Кат. № НК-1-50):

- Центрифужные колонки с собирающими пробирками – 1 упаковка 50 шт;
- Буфер ПГ – 1 флакон 17,5 мл;
- Буфер ОБ – 1 флакон 25 мл;
- Буфер П1 – 1 флакон 24 мл;
- Буфер П2 – 1 флакон 8,75 мл;
- Буфер П3 – 1 флакон 8,75 мл;
- Буфер ЕБ – 1 флакон 13 мл;
- Инструкция по применению.

- Комплект 4 (Кат. № НК-1-100):

- Центрифужные колонки с собирающими пробирками – 2 упаковки по 50 шт;
- Буфер ПГ – 1 флакон 37 мл;
- Буфер ОБ – 1 флакон 50 мл;
- Буфер П1 – 1 флакон 48 мл;
- Буфер П2 – 1 флакон 17,5 мл;
- Буфер П3 – 1 флакон 17,5 мл;
- Буфер ЕБ – 1 флакон 30 мл;
- Инструкция по применению.

2.3 В состав реагентов входят:

Буфер ПГ:

Гуанидин тиоцианат;

Буфер ОБ:

Натрий хлористый.

Буфер П1:

Трис солянокислый;

Гуанидин гидрохлорид.

Буфер П2:

Натрий хлористый;

Трис солянокислый.

Буфер П3:

Натрий хлористый;

Трис солянокислый.

Буфер ЕБ:

Трис солянокислый.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Аналитическая чувствительность выявления ДНК *Giardia lamblia* определяется по восьми образцам положительных биопроб стандартного образца предприятия, СОП ГЛ (СОП 02-1), с содержанием ДНК *Giardia lamblia* 100 копий в пробе – 100%.

3.2. Аналитическая специфичность выявления ДНК *Giardia lamblia* определяется по восьми образцам биопроб стандартного образца предприятия, не содержащих ДНК *Giardia lamblia* СОП ГЛ (СОП 02-1) - 100%.

3.3. Аналитическая чувствительность выделения РНК определяется по шести образцам положительных биопроб стандартного образца предприятия, СОП ГА (СОП 03-1), с содержанием РНК вируса гриппа А ~500 копий в 1 мл – 100%.

3.4. Аналитическая специфичность выделения РНК определяется по шести образцам отрицательных биопроб стандартного образца предприятия, СОП ГА (СОП 03-1) - 100%.

Диагностическая чувствительность и диагностическая специфичность зависят от характеристик тест-специфичного набора.

Полученный результат не может использоваться в качестве единственного показателя для диагностики заболеваний, но используется в сочетании с другими лабораторными показателями и другой диагностической информацией.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1 Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2 Все компоненты набора, используемые согласно инструкции, являются нетоксичными и не имеют контакта с организмом человека.

4.3 При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г и методических указаниях МУ 287-113 («Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения», утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.14.1998 г.). Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК/РНК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, исследующих методы амплификации нуклеиновых кислот и выявления микроорганизмов, содержащих микроорганизмы I-IV групп патогенности».

4.4 При работе с набором следует надевать одноразовые медицинские перчатки, так как клинические образцы человека следует рассматривать как потенциально инфекционные, способные длительное время сохранять и передавать ВИЧ, вирусы гепатита или возбудителей других инфекций.

4.5 Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6 Запрещается приём пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7 Набор не содержит тканей, клеток и биологических веществ человеческого, животного происхождения. Набор не содержит веществ, обладающих канцерогенным, мутагенным или влияющим на репродуктивную деятельность человека действием. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

4.8. Противопоказаний в рамках установленного назначения не имеет.

4.9 К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с реагентами требуются следующие оборудование и материалы:

- ПЦР-бокс;
- амплификатор с детекцией в режиме реального времени, например, «ДТ-ПРАЙМ» производства ООО «НПО-ДНК-Технология»;
- микроцентрифуга, на 13000 об./мин., например, Eppendorf Centrifuge серии 54xx производства Eppendorf AG (Германия);
- набор одноканальных дозаторов с переменным объемом, например, Eppendorf research Plus производства Eppendorf AG (Германия);
- штативы для наконечников и микропробирок;
- одноразовые наконечники с фильтрами для дозаторов;
- одноразовые полипропиленовые микропробирки объемом 1,5 – 2,0 мл;
- одноразовые полипропиленовые микропробирки объемом 0,2 мл;
- ёмкость с дезинфицирующим раствором для сброса использованного расходного материала;
- набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов («ФБиоНуклео»), производства ООО «Фрактал Био» или аналогичный (см. п. 2.2. инструкции по применению);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (ГОСТ Р 52239-2004);
- спирт этиловый ректификованный 96% (ГОСТ 18300-87).

6. ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА.

Плазма крови с антикоагулянтами К₂ЭДТА, К₃ЭДТА, гепарином и цитратом натрия, сыворотка крови, мокрота, моча, слюна, ликвор, эякулят, секрет предстательной железы, мазки и смывы из полости носа и ротоглотки, соскобы эпителиальных клеток с задней стенки глотки, соскобы эпителиальных клеток со слизистой цервикального канала, уретры, прямой кишки и фекалии и др.

Процедура взятия клинического материала проводится в соответствии с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка хранение клинического материала для ПЦР-диагностики» и в соответствии с инструкцией к тест-специфичному набору.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Предварительные действия.

7.1.1 Перед использованием проверить лизирующий буфер (ПГ) на наличие осадка. Если осадок образовался, необходимо его растворить нагреванием буфера до 37°C и перемешиванием непосредственно перед использованием.

7.1.2 Убедитесь, что все буферы и центрифужные колонки имеют при использовании комнатную температуру.

7.1.3 Рекомендуется проводить отрицательный контроль – выделение из воды, и использовать его при последующих постановках обратной транскрипции и ПЦР.

7.1.4 Добавьте по 16,25 мл (50 выделений) или по 32,5 мл (100 выделений) этанола (96%) во флаконы с буферами П2 и П3 из состава набора «ФБиоНуклео» перед первым их использованием, поставьте галочки на крышке флаконов. Полученные буферы хранятся в закрытом виде и при температуре +18...23°C в течение всего срока годности.

Примечание. Центрифугирование на каждом этапе выделения осуществляется в микроцентрифуге на 13000 об/мин (17900g) при комнатной температуре.

7.2 Непосредственно выделение.

7.2.1 Добавьте 350 мкл лизирующего буфера (ПГ) к 100 мкл пробы или к 50 мкл крови. Тщательно перемешать при помощи вортекса.

Инкубировать пробирки со смесью 5 минут при комнатной температуре, периодически встряхивая на вортексе.

7.2.2 Добавьте в пробирку 500 мкл осаждающего буфера (ОБ). Тщательно перемешать. Инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

Примечание. Полученные на этом этапе материалы допускается хранить сутки при комнатной температуре и продолжить выделение позже.

Проведите центрифугирование в течение 5 минут при 13000 об/мин.

7.2.3 С помощью пипетки перенесите 700 мкл супернатанта на центрифужную колонку из состава набора.

Внимание! Избегайте взбалтывания и переноса осадка!

Провести центрифугирование в течение 1 минуты.

Удалите центрифугат из пробирки и поместите колонку обратно в собирающую пробирку.

7.2.4 Добавьте 450 мкл промывочного буфера (П1) на центрифужную колонку и проведите центрифугирование в течение 1 минуты. Удалите центрифугат из пробирки и поместите колонку обратно в собирающую пробирку.

Внимание! Убедитесь, что в промывочные буферы (П2 и П3) добавлен этанол.

7.2.5 Добавьте 450 мкл промывочного буфера (П2) на центрифужную колонку и проведите центрифугирование в течение 1 минуты. Удалите центрифугат из пробирки и поместите колонку обратно в собирающую пробирку.

7.2.6 Добавьте 450 мкл промывочного буфера (П3) на центрифужную колонку и проведите центрифугирование в течение 1 минуты. Удалите центрифугат из пробирки и поместите колонку обратно в собирающую пробирку.

Проведите дополнительное центрифугирование в течение 1 минуты для удаления остатков буферного раствора и этанола.

7.2.7 Для комплекта 1 (Кат. № НК-1-50+) и комплекта 2 (Кат. № НК-1-100+) перенести колонку в чистую собирающую пробирку из состава набора. Для элюирования нуклеиновых кислот добавить 100 мкл буфера ЕБ из набора реагентов «ФБиоНуклео» в центр мембраны колонки для полной элюции связанной нуклеиновой кислоты и проведите центрифугирование в течение 1 минуты.

7.2.8 Для комплекта 3 (Кат. № НК-1-50) и комплекта 4 (Кат. № НК-1-100) поместить колонку на чистую одноразовую полипропиленовую микропробирку объемом 1,5-2 мл. Для элюирования нуклеиновых кислот добавить 100 мкл буфера ЕБ из набора реагентов «ФБиоНуклео» в центр мембраны колонки для полной элюции связанной нуклеиновой кислоты и проведите центрифугирование в течение 1 минуты.

Полученный центрифугат использовать для анализа выделенных нуклеиновых кислот методом ПЦР.

Внимание! Для полной элюции связанной нуклеиновой кислоты убедитесь, что буфер ЕБ наносится точно на мембрану. Избегайте контакта наконечника пипетки с мембраной.

Примечание Объём буфера ЕБ для элюции можно варьировать от 15 до 200 мкл в зависимости от поставленной задачи.

8. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

8.1. Транспортирование.

8.1.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре от плюс 18°C до плюс 23°C. Допускается транспортировка при температуре до плюс 8°C не более 7 суток.

8.1.2. Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8.2. Хранение.

8.2.1 Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от плюс 18°C до плюс 23°C в течение всего срока годности.

Срок годности набора - 12 месяцев.

Срок годности вскрытых компонентов набора – 12 месяцев.

Срок годности приготовленных для работы компонентов – в течение всего срока годности.

Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных серий набора «ФБиоНуклео»,

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

8.2.2 Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

8.3. Эксплуатация.

8.3.1 При использовании набора необходимо придерживаться следующих правил:

- не использовать Набор после окончания срока годности.
- не использовать Набор реагентов, если упаковка повреждена.
- использовать только оборудование, прошедшее метрологическую поверку.
- после использования реагента немедленно закрывайте крышку флакона. Закрывайте каждый флакон своей крышкой.

8.3.2. Все компоненты Набора реагентов при соблюдении требований данной Инструкции стабильны в течение всего срока годности. Не используйте Набор с истекшим сроком годности. Срок годности набора указан на внешней стороне упаковки.

8.3.3 Неправильное обращение с образцами и изменение процедуры постановки анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение Инструкции по применению.

8.4. Утилизация.

8.4.1. Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации.

8.4.2. При использовании набора образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 4.1.8.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

8.4.3. Утилизация проводится специализированными организациями, которые имеют

9. ПЕРЕЧЕНЬ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ.

Медицинское изделие для диагностики *in vitro* Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов «ФБиоНуклео» по ТУ 21.20.23-001-83881765-2020 в вариантах исполнения соответствует требованиям: ГОСТ Р 51352-2013; ГОСТ Р 51088-2013; ГОСТ Р ИСО 23640-2015; ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015; ГОСТ Р ЕН 13612-2010; ГОСТ ISO 18153-2011; ГОСТ ISO 14971-2011; ГОСТ ISO 17511-2011; ГОСТ Р 15.013-2016; ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

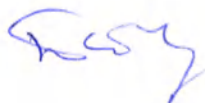
10.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

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

10.4. Основаниями для рекламации являются: отсутствие активности, неспецифичность реагентов, нарушение целостности флакона, недостаточные сведения. При составлении рекламации необходимо указать дату получения, номер серии, причины, по которым реагент признан негодным. Вместе с рекламацией направляют образцы данной серии реагентов или расходных материалов и протокол с результатами проверки. Рекламацию следует направить на предприятие-изготовитель.

По вопросам качества Набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов «ФБиоНуклео» ТУ 21.20.23-001-83881765-2020 в вариантах исполнения просьба обращаться на предприятие-изготовитель: ООО «Фрактал Био», 190020, г. Санкт-Петербург, ул. Бумажная, д. 17, тел/факс (812) 495-96-95, quality@fractalbio.com.

Генеральный директор
« 12 » 08 2020 г



Погода А.А.

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

«07» сентября 2022 год

Ген.директор

ООО «Фрактал Био»

Погода А.А. Фрактал Био



ПАСПОРТ

Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из клинических образцов
«ФБиоНуклео» по ТУ 21.20.23-001-83881765-2020 в вариантах исполнения

Наименование показателей		Требования ТУ 21.20.23-001-83881765-2020	Результаты контроля Комплект (Кат. №) лот , дата производства . . г. годен до . . г.	Отметка о соответствии
1. Внешний вид				
1.1.	Центрифужные колонки с собирающими пробирками	Полипропиленовая колонка из прозрачного бесцветного пластика с крышкой и белой мембраной из пористого материала с полипропиленовой пробиркой из прозрачного бесцветного пластика		
1.2	Собирающие пробирки	Полипропиленовая пробирка из прозрачного бесцветного пластика		
1.3	Буфер ПГ (лизирующий буфер)	Бесцветная прозрачная жидкость		
1.4	Буфер ОБ (осаждающий буфер)	Бесцветная прозрачная жидкость		
1.5	Буфер П1 (промывочный буфер)	Бесцветная прозрачная жидкость		
1.6	Буфер П2 (промывочный буфер)	Бесцветная прозрачная жидкость		
1.7	Буфер ПЗ (промывочный буфер)	Бесцветная прозрачная жидкость		
1.8	Буфер ЕБ (элюирующий буфер)	Бесцветная прозрачная жидкость		
2. Технические характеристики				
2.1.	Определение pH реагентов			
2.1.1	pH Буфера ПГ, в диапазоне	3,5-4,5		
2.1.2	pH Буфера ОБ, в диапазоне	5,5-6,5		
2.1.3	pH Буфера П1, в диапазоне	6,0-7,0		
2.1.4	pH Буфера П2, в диапазоне	7,5-8,5		
2.1.5	pH Буфера ПЗ, в диапазоне	7,0-8,0		
2.1.6	pH Буфера ЕБ, в диапазоне	8,0-9,0		
3. Эффективность выделения нуклеиновых кислот				
3.1	Чувствительность выделения ДНК по стандартному образцу предприятия	100%		
3.2	Специфичность выделения ДНК по стандартному образцу предприятия	100%		
3.3	Чувствительность выделения РНК по стандартному образцу предприятия	100%		
3.4	Специфичность выделения РНК по стандартному образцу предприятия	100%		
	Герметичность	отсутствие следов жидкости на бумаге и на флаконе		

Контролер

Чистякова Е.А.
(старший технолог)

Штамп ОТК изготовителя



Заключение: набор соответствует
требованиям ТУ 21.20.23-001-83881765-2020