

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «Амплитек»



А.В. Ходяков

02.08.2021

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ ДНК ИЗ
БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ЧЕЛОВЕКА
(ДНК-100)

Инструкция по применению версии 02.08.21

Лист утверждения

Руководитель отдела разработки и
адаптации продукции ООО «Амплитек»

П.Г. Рыжих

02.08.2021

Руководитель отдела разработки
документации ООО «Амплитек»

Д.А. Бурдачёва

02.08.2021

ДНК-100

Набор реагентов для экстракции ДНК из
биологического материала человека (ДНК-100)

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

Форма 1 **REF** E002-1  96

Форма 2 **REF** E002-2  96

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ	4
1.1 Область применения	4
2 ФОРМЫ ВЫПУСКА	4
3 СОСТАВ	4
4 ПРИНЦИП МЕТОДА	5
5 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	6
6 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	7
7 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	9
7.1 Потенциально интерферирующие вещества	11
8 ПРОЦЕДУРА ЭКСТРАКЦИИ ДНК	11
8.1 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 1 (автоматическая методика с использованием автоматической станции «Amplitech E1»)	12
8.2 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (автоматическая методика с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™)	13
8.3 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием центрифугирования)	14
8.4 Хранение очищенной ДНК	16
9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	16
9.1 Контроли, используемые на этапе экстракции ДНК	16
9.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации	16
10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	17
11 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	17
12 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ	17
13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	18
14 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	19
15 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА	19
16 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	19

ВВЕДЕНИЕ

Настоящая инструкция по применению версии 02.08.21 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для экстракции ДНК из биологического материала человека (ДНК-100)» по ТУ 21.20.23-001-19926214-2021 (далее – набор).

Краткое наименование набора: ДНК-100.

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

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для экстракции ДНК из биологического материала человека для последующего исследования методом ПЦР. Для проведения экстракции ДНК с помощью набора следует использовать следующие виды биологического материала:

- мазки со слизистой оболочки влагалища, прямой кишки, ротоглотки, с конъюнктивы, с пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек;
- соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала, уретры;
- секрет предстательной железы, моча (осадок первой порции утренней мочи).

1.1 Область применения

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro* (экстракции ДНК из биологического материала человека). Набор может применяться в клинично-диагностических лабораториях и научно-исследовательских организациях.

2 ФОРМЫ ВЫПУСКА

Набор выпускается в двух формах¹ (см. таблицу 1).

Таблица 1

Описание форм выпуска набора

Форма	Назначение	Количество исследований, в том числе для контролей
1	Для проведения экстракции ДНК с применением автоматической методики с использованием автоматической станции пробоподготовки «Amplitech E1» (ООО «Амплитек»).	96
2	Для проведения экстракции ДНК с применением: - ручной методики с использованием центрифугирования, - автоматической методики с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific, Финляндия).	96

3 СОСТАВ

Состав форм выпуска набора указан в таблицах 2, 3 и 4.

Таблица 2

Состав формы 1

Компонент	Количество	Внешний вид
Картридж с реагентами ДНК-100	2 шт.	96-луночные планшеты с реагентами, запаянные фольгированной плёнкой
ОКО (Буферный раствор)	1,2 мл x 1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Одноразовые наконечники	96 шт.	Наконечники с фильтром
Одноразовые пробирки	96 шт.	Стрипованные или индивидуальные пробирки
Плёнки для картриджа	8 шт.	Клейкие плёнки

¹ Набор в форме выпуска 1 упакован в коробку из картона, в форме выпуска 2 - в полиэтиленовый пакет с застёжкой Zip-Lock.

Компонент	Количество	Внешний вид
Инструкция по применению	1 шт.	В электронном виде ² по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	1 шт.	В электронном виде ² по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

Таблица 3

Расположение и объём реагентов в картридже, входящем в состав формы 1

Ряды ячеек	Реагент	Номинальный объём в ячейке, мл	Внешний вид
A, C, E, G	Буфер A1 (Раствор для лизиса с магнетизированной силикой и внутренним контролем ВКО-FL)	 Опасно³ 0,20	Суспензия ⁴ от коричневого до чёрного цвета
B, D, F, H	Буфер A2 (Раствор для отмывки и элюции)	0,75	Прозрачная бесцветная жидкость

Таблица 4

Состав формы 2

Компонент	Номинальный объём, мл	Количество	Внешний вид
Буфер A1  Опасно ³ (Раствор для лизиса с магнетизированной силикой и внутренним контролем ВКО-FL)	19,2	1 флакон	Суспензия ⁴ от коричневого до чёрного цвета
Буфер A2 (Раствор для отмывки и элюции)	72,0	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость
ОКО (Буферный раствор)	1,2	1 пробирка	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	–	1 шт.	В электронном виде ² по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	–	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде ² по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

4 ПРИНЦИП МЕТОДА

Экстракция ДНК проводится методом магнитной сепарации. Процедура экстракции ДНК включает:

- обработку исследуемого образца лизирующим раствором,
- связывание ДНК с частицами магнитного сорбента (магнетизированной силики),
- удаление других компонентов лизированного биологического материала последующими отмывками сорбента при осаждении магнитного сорбента с ДНК под действием постоянного магнитного поля или с использованием центрифуги,
- элюцию ДНК при добавлении раствора для элюции к магнитному сорбенту.

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

³ Реагент содержит опасные вещества, информацию по которым см. в разделе 6.

⁴ В процессе хранения возможно оседание магнетизированной силики, вследствие чего образуется осадок от коричневого до чёрного цвета в прозрачном растворе.

5 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются оборудование и материалы, указанные в таблице 5.

Таблица 5

Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором

Форма выпуска	Необходимое оборудование и материалы
ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКа.	
Форма 1	• автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» (ООО «Амплитек», Россия); • бокс микробиологической безопасности класс II (тип A); • центрифуга-вортекс; • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 10 до 100 мкл; • штатив для пробирок объемом 2,0 мл; • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °C до 8 °C; • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 10 и 100 мкл, одноразовые, свободные от ДНКа; • контейнеры для элюата согласно требованиям, указанным в руководстве по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1»; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.
	Автоматическая методика экстракции • процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific, Финляндия); • бокс микробиологической безопасности класс II (тип A); • центрифуга-вортекс; • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 10 до 1000 мкл; • штатив для пробирок объемом 2,0 мл; • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °C до 8 °C; • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 10, 100, 200 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКа; • расходные материалы для процессора магнитных частиц KingFisher™; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.
Форма 2	Ручная методика экстракции • бокс микробиологической безопасности класс II (тип A); • центрифуга-вортекс; • микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10000 x g; • термостат для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с возможностью нагрева не менее чем до 80 °C; • вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой; • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 100 до 1000 мкл; • штатив для пробирок объемом 1,5 и 2,0 мл; • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °C до 8 °C; • микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл с крышками, одноразовые, свободные от ДНКа; • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 100, 200 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКа; • наконечники для дозаторов переменного объема, без фильтра, объемом до 200 мкл, одноразовые; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.

6 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Класс потенциального риска применения набора (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012) – 2а.

Работа должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов исследования.
- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с СП 1.3.2322-08).
- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08.
- Утилизировать реагенты, входящие в состав формы 2, и плёнки для картриджа, входящие в состав формы 1, (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения) в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» к утилизации медицинских отходов класса Г.
- Утилизировать одноразовые наконечники и одноразовые пробирки, входящие в состав формы 1, (неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения), в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса Г.
- Утилизировать биологический материал, картриджи с внесёнными образцами, а также загрязнённые биологическим материалом расходные материалы (в том числе одноразовые наконечники и пробирки, входящие в состав набора) и инструменты в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса Б.
- Утилизировать внешнюю упаковку набора и краткое руководство в соответствии с требованиями СанПин 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса А.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию, указанному в таблицах 2-4 для соответствующей формы выпуска набора.

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

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром или без фильтра (при удалении надсадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя).

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

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

Реагенты ОКО и Буфер А2 содержат натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируются как опасные для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть поражённое место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь, рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

Буфер А1 классифицируется как опасный. Вещества⁵, которые повлияли на его классификацию: изопропанол, гуанидин гидрохлорид, гуанидин изотиоцианат. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данным реагентом, приведены в таблице 6. Лист безопасности реагента доступен по запросу.

Таблица 6

Заявления об опасности и меры предосторожности для Буфера А1

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси.	H336: Может вызывать сонливость или головокружение.
H302: Вредно при проглатывании.	H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.
H314: При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги.	EUN032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
H319: При попадании в глаза вызывает серьёзное раздражение.	
Меры предосторожности	
P210: Беречь от источников воспламенения/нагрева/искр/открытого огня. Не курить.	P304+P340+P312: ПРИ ВДЫХАНИИ: Свежий воздух, покой. Обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии.
P241: Использовать взрывобезопасное оборудование и освещение.	P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз снять их и продолжить промывание водой.
P242: Использовать искробезопасные инструменты.	
P243: Беречь от статического электричества.	

⁵ Буфер А1 содержит натрия азид в концентрации (не более 0,05 %), не влияющей на классификацию реагента как опасного.

P261: Избегать вдыхания паров.
 P264: Вымыть тщательно руки после работы.
 P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.
 P271: Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении.
 P273: Избегать попадания в окружающую среду.
 P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства защиты глаз.
 P301+P330+P331: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополоскать рот. Не вызывать рвоту!
 P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязнённую одежду. Промыть кожу водой или принять душ.

P332+P313: При раздражении кожи: обратиться за медицинской консультацией. P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией.
 P363: Перед повторным использованием выстирать загрязнённую одежду.
 P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения.
 P403+P233: Хранить в хорошо вентилируемом месте в плотно закрытой упаковке.
 P501: Утилизировать содержимое в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

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

7 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Набор предназначен для экстракции ДНК только из биологического материала человека, указанного в разделе 1.

Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с:

- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»;
- МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории»;
- требованиями, перечисленными в таблицах 7 и 8.

Таблица 7

Требования к взятию и предварительной обработке исследуемого материала

Взятие мазков со слизистой оболочки влагалища

Взятие материала провести с помощью стерильного одноразового зонда-тампона или стерильного одноразового универсального зонда в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Взятие мазков со слизистой оболочки прямой кишки, с конъюнктивы, с пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек

Взятие материала провести с помощью стерильного одноразового зонда-тампона в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Взятие мазков со слизистой оболочки ротоглотки

Взятие материала провести с помощью стерильного одноразового зонда-тампона в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Взятие соскобов эпителия со слизистой оболочки цервикального канала

Взятие материала провести с помощью стерильной одноразовой цервикальной цитощётки или стерильного одноразового универсального зонда в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Взятие соскобов эпителия со слизистой оболочки уретры

Взятие материала провести с помощью стерильного одноразового универсального зонда в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Взятие секрета предстательной железы

Собрать секрет простаты в количестве 0,5–1 мл в специальную одноразовую ёмкость. При невозможности получить секрет сразу после массажа простаты, собрать первую порцию мочи, в которой содержится секрет предстательной железы, в количестве 15–25 мл и провести её предобработку согласно порядку предобработки мочи.

Взятие и предобработка мочи

Отобрать первую порцию утренней мочи в количестве 15–25 мл в специальную одноразовую ёмкость.

Предобработка:

Взболтать ёмкость с мочой. Перенести 1 мл мочи, используя наконечник с фильтром, в стерильную одноразовую пробирку. Центрифугировать 5 мин при 10000 x g. Не захватывая осадок, полностью удалить супернатант, используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца. При наличии большого количества солей ресуспендировать только верхний слой осадка солей в 1 мл физиологического раствора стерильного, затем снова концентрировать центрифугированием и удалить супернатант, не захватывая осадок.

К осадку добавить 200 мкл физиологического раствора стерильного. Тщательно перемешать содержимое на вортексе.

Таблица 8

Требования к условиям транспортирования и хранения исследуемого материала

Условия транспортирования	Условия хранения
Исследуемые материалы, помещённые в транспортную среду	
Согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание материала.	
Секрет предстательной железы	
При температуре от 2 °С до 8 °С	• При комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) не более 6 ч; • При температуре от 2 °С до 8 °С не более суток; • При температуре минус 20 °С не более недели; • При температуре минус 70 °С длительно; • Допускается однократное замораживание материала.
Моча	
При температуре от 2 °С до 8 °С	До и после предобработки: • при температуре от 2 °С до 8 °С не более суток; • при температуре минус 20 °С не более недели; • при температуре минус 70 °С длительно; • Допускается однократное замораживание материала.

7.1 Потенциально интерферирующие вещества

Потенциально интерферирующие вещества (ингибиторы ПЦР) и их максимальные концентрации в образце, для которых оценивалось их ингибирующее влияние на ПЦР, перечислены в таблице 9.

Таблица 9

Потенциально интерферирующие вещества

Исследуемый материал	Потенциальный интерферент	Концентрация в образце	Ингибирующий эффект
Мазки со слизистой оболочки влагалища, соскобы эпителия со слизистых оболочек цервикального канала, уретры	Муцин	5 % v/v	Отсутствует
	Цельная кровь	5 % v/v	Отсутствует
Моча (осадок первой порции)	Альбумин	500 мг/л	Отсутствует
	Азитромицин	1 мг/мл	Отсутствует
Секрет предстательной железы	Фруктоза	10 мг/мл	Отсутствует
	Ибупрофен®	300 мкг/мл	Отсутствует
Мазки со слизистой оболочки ротоглотки	Раствор хлоргексидина	0,25 %	Отсутствует
	Стоматофит®	1,5 %	Отсутствует
	Мирамистин®	0,001 %	Отсутствует
	Раствор Люголя с глицерином	0,1 %	Отсутствует
	Цельная кровь	5 % v/v	Отсутствует
	Муцин	5 % v/v	Отсутствует
Мазки со слизистой оболочки прямой кишки	Фекалии	5 %	Отсутствует
	Гель-смазка Durex Play Feel	15 %	Отсутствует
Мазки с конъюнктивы	Дикаин	0,03 %	Отсутствует
Мазки с пузырьковых высыпаний и эрозивно-язвенных поражений кожи и слизистых оболочек	Ацикловир®	5 %	Отсутствует

Наличие возможного ингибирующего эффекта оценивалось путём проведения процедуры экстракции с использованием набора из модельных образцов биологического материала, в которые добавлялись потенциальные интерференты в концентрациях согласно таблице 9 и стандартный образец предприятия, содержащий ДНК *Chlamydia trachomatis*, в концентрации 500 ГЭ/мл. Далее с экстрагированными образцами проводили ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» с использованием набора реагентов «АмплиСенс® *Chlamydia trachomatis*-FL».

8 ПРОЦЕДУРА ЭКСТРАКЦИИ ДНК

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора реагентов для проведения амплификации включён внутренний контроль (ВК), то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению этого набора. Если в состав набора реагентов для проведения амплификации включены какие-либо иные контроли, используемые со стадии экстракции (например, положительный контроль (ПК),

отрицательный контроль (ОК)), необходимо подготовить данные образцы согласно инструкции по применению этого набора.

8.1 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 1 (автоматическая методика с использованием автоматической станции «Amplitech E1»)

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1».

ВНИМАНИЕ! Для внесения в ячейки картриджа исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого образца.

8.1.1 Подготовка реагентов

8.1.1.1 Подготовить используемые контрольные образцы (например, ВК, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

8.1.1.2 Перемешать реагенты в картридже для ресуспендирования магнетизированной силики в Буфере А1. Перемешивание производить до получения равномерной суспензии коричневого цвета без осадка в ячейках рядов А, С, Е, G.

ВНИМАНИЕ! При перемешивании картридж держать фольгированной плёнкой вверх. Перемешивание осуществлять путём встряхивания картриджа в горизонтальной плоскости, чтобы избежать попадания содержимого ячеек на защитную плёнку.

ВНИМАНИЕ! В картридже с ранее вскрытыми и использованными для экстракции ячейками необходимо заклеить данные ячейки клейкой плёнкой, входящей в состав набора, разрезав её по нанесённым линиям.

8.1.1.3 Проколоть защитную фольгированную плёнку необходимого количества ячеек картриджа в рядах А/С/Е/Г с использованием специализированного перфоратора (входит в комплект поставки станции «Amplitech E1») для последующего внесения исследуемых и контрольных (ВК, ПК, ОК) образцов.

ВНИМАНИЕ! Исследуемые образцы, ВК и контроли (ОК, ПК) должны быть внесены в ячейки картриджа не позднее чем через два часа после вскрытия ячеек.

8.1.2 Внесение образцов и запуск протокола в работу

8.1.2.1 Внести во вскрытые (проколотые) ячейки картриджа рядов А/С/Е/Г требуемый объём ВК.

Примечания

1) Требуемый объём ВК, если он включён в состав набора реагентов для проведения амплификации, см. в инструкции по применению этого набора.

2) Буфер А1 содержит внутренний контроль ВКО-FL в объёме из расчёта 10 мкл на один исследуемый образец.

8.1.2.2 Добавить в ячейки с уже внесённым ВК исследуемые⁶ и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный

⁶ Для образцов мочи необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

наконечник. Каждый образец должен быть внесён в отдельную ячейку картриджа.

ВНИМАНИЕ! Во избежание получения невалидных результатов, не допускается внесение в ячейки картриджа исследуемых образцов, содержащих сгустки, слизь, твёрдые частицы и другие примеси, способные закупорить одноразовые наконечники автоматической станции.

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

ВНИМАНИЕ! После внесения исследуемых, контрольных образцов и ВК процедура экстракции на автоматической станции должна быть запущена в течение 20 мин.

8.1.2.3 Разместить на рабочем столе автоматической станции согласно руководству по её применению: картридж с внесёнными исследуемыми образцами и контролями, необходимое количество одноразовых наконечников и пробирок, входящих в состав набора, а также используемые контейнеры для элюата.

8.1.2.4 Запустить выполнение протокола экстракции ДНК согласно руководству по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1» с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «ДНК-100».

Примечание – Объем элюции указать в протоколе в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов для проведения амплификации.

8.1.2.5 Надосадочная жидкость в контейнерах для элюата, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную ДНК, которую можно использовать для постановки ПЦР.

8.2 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (автоматическая методика с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™)

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации процессора KingFisher™.

ВНИМАНИЕ! Для внесения в лунки планшета реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого реагента/образца.

8.2.1 Подготовка реагентов

8.2.1.1 Перемешать тщательно взбалтыванием Буфер А1 и Буфер А2.

ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером А1 не должно оставаться осадка коричневого или чёрного цвета.

8.2.1.2 Подготовить используемые контрольные образцы (например, ВК, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

8.2.2 Подготовка глубоколоночных планшетов

Перед проведением автоматической экстракции с использованием процессора KingFisher™ необходимо разнести реагенты, входящие в состав данного набора, по

глубоколуночным планшета, совместимым с прибором. Для этого необходимо выполнить порядок действий, указанный ниже.

8.2.2.1 Промаркировать 4 глубоколуночных планшета: A1, A2, Э, Гр.

8.2.2.2 В лунки планшета A1 внести требуемый объем ВК и по 200 мкл Буфера A1.

Примечания

1) Требуемый объем ВК, если он включен в состав набора реагентов для проведения амплификации, см. в инструкции по применению этого набора.

2) Буфер A1 содержит внутренний контроль ВКО-FL в объеме из расчета 10 мкл на один исследуемый образец.

8.2.2.3 В лунки планшета A2 внести по 500 мкл Буфера A2.

8.2.2.4 В лунки планшета Э внести от 100 до 250 мкл Буфера A2.

Примечание - Требуемый объем реагента для элюции (Буфера A2) см. в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

8.2.2.5 В планшет Гр поместить насадку на магнитную голову KingFisher™.

8.2.3 Загрузка протокола экстракции

Для проведения экстракции ДНК с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ необходимо использовать протокол экстракции «DNA100-KF», расположенный по адресу: <http://www.amplitech.ru/resources/>. Загрузка протокола в программное обеспечение «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments»⁷ для работы с прибором KingFisher™ осуществляется согласно руководству по эксплуатации программного обеспечения.

8.2.4 Внесение образцов и запуск протокола в работу

8.2.4.1 Внести в ячейки подготовленного планшета A1 с реагентами исследуемые⁸ и контрольные образцы в объеме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник.

8.2.4.2 Выбрать в программном обеспечении «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments» загруженный протокол «DNA100-KF».

8.2.4.3 По запросу программного обеспечения прибора установить в него подготовленные планшеты A1, A2, Э, Гр. После установки планшетов запустить процедуру экстракции ДНК.

8.2.4.4 Надосадочная жидкость в планшете Э, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную ДНК, которую можно использовать для постановки ПЦР.

8.3 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием центрифугирования)

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого реагента/образца.

⁷ Программное обеспечение поставляется с процессором магнитных частиц KingFisher™.

⁸ Для образцов мочи необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

8.3.1 Перемешать тщательно взбалтыванием Буфер А1 и Буфер А2.

ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером А1 не должно оставаться осадка коричневого или чёрного цвета.

8.3.2 Подготовить используемые контрольные образцы (например, ВК, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

8.3.3 Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (например, ПК, ОК) образцов.

8.3.4 Внести в каждую промаркированную пробирку требуемый объем ВК и 200 мкл Буфера А1.

Примечания

1) Требуемый объем ВК, если он включён в состав набора реагентов для проведения амплификации, см. в инструкции по применению этого набора.

2) Буфер А1 содержит внутренний контроль ВКО-FL в объеме из расчёта 10 мкл на один исследуемый образец.

8.3.5 Внести в промаркированные пробирки исследуемые⁹ и контрольные образцы в объеме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.6 Поместить пробирки в термостат с температурой 60 °С на 3 мин.

8.3.7 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.8 По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.

8.3.9 Добавить в пробирки по 500 мкл Буфера А2.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера А2 содержимое пробирок не перемешивать.

8.3.10 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.11 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.8.

8.3.12 Добавить в пробирки от 100 до 250 мкл Буфера А2. Плотно закрыть крышки.

Примечание – Требуемый объем реагента для элюции (Буфера А2) см. в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

8.3.13 Перемешать содержимое пробирок на вортексе, добиваясь максимально полной гомогенизации магнетизированной силики в растворе.

8.3.14 Поместить пробирки в термостат с температурой 80 °С на 5 мин.

8.3.15 Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.16 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.17 Надосадочную жидкость, содержащую очищенную ДНК, можно использовать для постановки ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение препарата ДНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после

⁹ Для образцов мочи необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

центрифугирования препарат не был внесён в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

8.4 Хранение очищенной ДНК

Для хранения ДНК необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку. Рекомендуется хранить очищенную ДНК:

- при температуре от 2 °С до 8 °С не более недели,
- при температуре от минус 24 °С до минус 16 °С не более 6 месяцев,
- при температуре не выше минус 68 °С не более года.

9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

9.1 Контроли, используемые на этапе экстракции ДНК

Контроль этапа экстракции ДНК осуществляется одновременно с оценкой достоверности результатов этапа амплификации согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации. Результаты исследования контролей, проходящих экстракцию ДНК вместе с исследуемыми образцами, должны соответствовать критериям оценки, указанным в инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

9.1.1 Отрицательный и положительный контроли

Каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы, если они предусмотрены для проведения исследования согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации:

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

9.1.2 Внутренний контроль

Для контроля качества экстракции ДНК и оценки влияния ингибиторов на результаты амплификации в исследовании может использоваться экзогенный¹⁰ и эндогенный¹¹ ВК. Экзогенный ВК добавляется на этапе экстракции в каждый исследуемый и контрольный образец. Отсутствие результатов амплификации для ВК и одновременно для выявляемой мишени свидетельствует о возможном присутствии ингибиторов ПЦР в образце.

9.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

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

¹⁰ ВКО-FL из набора ДНК-100 или ВК, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации.

¹¹ В качестве эндогенного ВК используются мишени, предусмотренные набором реагентов для проведения амплификации.

контаминации необходимо провести мероприятия по ее устранению согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Эффективность экстракции ДНК для набора составляет 100 %. Указанное значение характеристики достигается при соблюдении требований, приведённых в разделе 7.

Набор обеспечивает экстракцию ДНК с чистотой, достаточной для последующего проведения ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени».

11 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты в пробирках и флаконах использовать до истечения срока годности набора. После вскрытия ячеек картриджа с реагентами экстракция с использованием вскрытых ячеек должна быть проведена в течение 140 мин (с учётом времени, затрачиваемого на внесение в ячейки исследуемых образцов и контролей).

11.2 Хранение

Набор хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в защищённом от солнечного света месте. Не допускается замораживание реагентов.

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

11.3 Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 25 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

11.4 Эксплуатация

Реагенты, входящие в состав набора, готовы к использованию.

Ячейки картриджа с реагентами предназначены для однократного использования.

Экстракция ДНК с использованием набора должна проводиться при температуре от 18 °С до 25 °С и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

12 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применены следующие сокращения:

ВК	– внутренний контроль
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаз	– дезоксирибонуклеаза
ОК	– отрицательный контроль
ПК	– положительный контроль
ПЦР	– полимеразная цепная реакция

13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

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

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия

ГОСТ Р 15.301-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Продукция производственно-технического назначения. Порядок разработки и постановки продукции на производство

ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приёмка выпускаемой продукции. Основные положения

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

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

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

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

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

Примечание - При использовании данного документа целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящей инструкции следует пользоваться заменённым (изменённым) ссылочным документом.

14 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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

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

15 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

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

16 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Изготовитель



Код серии



Дата изготовления



Использовать до



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Не допускать попадания солнечного света



Обратитесь к инструкции по применению



Предел температуры



Содержимого достаточно для проведения n тестов



Осторожно!



Номер по каталогу



Знаки опасности



ООО «Амплитек»,
Россия, 109235, Москва,
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42
тел. (495) 374-13-46, www.amplitech.ru

Лист регистрации изменений

[illegible]

Пронумеровано, скреплено и прошито

21
лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«Амплитек»

А.В. Ходяков



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 21 ЛИСТОВ

12 август 2021 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМТЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавинус П.К.

