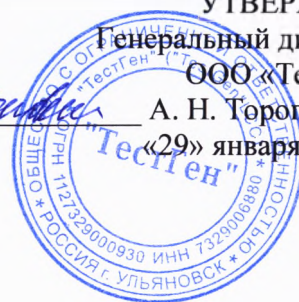


УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «ТестГен»
А. Н. Тороповский
«29» января 2020 г.



Blue circular stamp of ООО «ТестГен». The stamp contains the text: "ООО «ТестГен»", "ИНН 7329000930", "РОССИЯ г. УЛЬЯНОВСК", and "ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ". The word "ТестГен" is written in the center of the stamp.

ИНСТРУКЦИЯ

Набор реагентов для проведения контрольной ОТ-ПЦР «СОП-Экстра-контроль»

*Только для внутреннего применения сотрудниками
производственной лаборатории ООО «ТестГен», инженером ТК
при проведении контроля качества
«Набора реагентов для одновременного выделения ДНК/РНК из 96
клинических образцов «НК-Экстра-plate»*

Содержание

1. Назначение	4
2. Принцип метода.....	4
3. Состав набора реагентов	5
4. Характеристики набора реагентов	6
6. Меры предосторожности при работе с набором	7
7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов.....	9
8. Анализируемые образцы.....	9
9. Процедура выделения нуклеиновых кислот из исследуемых образцов КО и ОКО с использованием набора.....	10
«НК-Экстра-plate»	10
11. Регистрация и интерпретация результатов	14
12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов.....	15
13. Утилизация	16

1. Назначение

Набор реагентов «СОП-Экстра-контроль» предназначен для проведения контроля качества ДНК/РНК (эффективность выделения ДНК/РНК и контроля отсутствия контаминации компонентов набора посторонними ДНК/РНК), выделенной из контрольного образца (ВКО, входит в состав «СОП-Экстра-контроль») с помощью набора реагентов «НК-Экстра-plate» методом одностадийной обратной транскрипции – мультиплексно аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР).

Предназначен для внутреннего применения для проведения контроля качества «Набора реагентов для одновременно выделения ДНК/РНК из 96 клинических образцов «НК-Экстра-plate».

Предназначенный пользователь: сотрудник производственной лаборатории ООО «ТестГен», инженер ТИ квалификация пользователя - лицо, имеющее среднее профессиональное образование по направлению «Лабораторная диагностика» без предъявления требований к стажу работы и начальное профессиональное образование и стаж работы по специальности не менее двух лет.

2. Принцип метода

Метод

Одностадийная обратная транскрипция – мультиплексно аллель-специфическая полимеразная цепная реакция (ОТ-ПЦР) в реальном времени с гибридизационно-флуоресцентной детекцией

Принцип метода

По каналу FAM детектируется амплификация человеческого ДНК, выход реакции по каналу FAM указывает на присутствие материала ДНК человека (контаминация).

По каналу HEX детектируется амплификация ВКО, выход реакции по каналу HEX указывает на успешное выделение РНК – прохождение реакции обратной транскрипции и ПЦР.

3. Состав набора реагентов

Таблица 1 – Состав набора реагентов «СОП-Экстра-контроль»

№пп	Компонент	Внешний вид	Состав	Объем, мкл
1	Праймер-микс	Прозрачная жидкость розового цвета	Смесь олигонуклеотидов, см. таблицу 3	1800 мкл в пробирке на 2,0 мл
2	ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Буфер для одностадийной ОТ-ПЦР 5x OneStep (производства ООО «Белбиолаб»)	1800 мкл в пробирке на 2,0 мл
3	ВКО	Прозрачная бесцветная жидкость	Смесь плазмиды рUC19 с концентрацией 100 частиц/мкл и РНК, упакованной в капсид бактериофага с концентрацией 100 частиц/мкл	5 000 мкл во флаконе на 10 мл
4	ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость	Смесь геномной ДНК jurkat в концентрации 1000 копий на 15 мкл и плазмиды рMS2 в концентрации 1000 копий на 15 мкл в ТЕ-буфере	700 мкл в пробирке на 1,5 мл
5	ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	Деионизованная стерильная вода, свободная от ДНКаз/РНКаз	700 мкл в пробирке на 1,5 мл
6	ОКО для выделения	Прозрачная бесцветная жидкость	Деионизованная стерильная вода, свободная от ДНКаз/РНКаз	5 000 мкл во флаконе на 10 мл

Таблица 2 – Состав праймер-микса

№пп	Компонент	Количество реакций	
		1	315+
1	COMT-F, 100 мкМ	0,1	40
2	COMT-R, 100 мкМ	0,1	40
3	COMT-Z, 100 мкМ	0,05	20
4	MS2rep-F4, 100 мкМ	0,075	30
5	MS2rep- R4, 100 мкМ	0,075	30
6	MS2-VIC4, 100 мкМ	0,0375	15
7	H2O Rnase free	4,5625	1825

4. Характеристики набора реагентов

4.1 Технические и функциональные характеристики

Таблица 3 – Технические и функциональные характеристики набора реагентов «СОП-Экстра-контроль».

Наименование показателя	Характеристики и нормы
1. Технические характеристики	
1.1 Внешний вид	
Праймер-микс	Прозрачная жидкость розового цвета, 1 пробирка (1800 мкл)
ОТ-ПЦР-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка (1800 мкл)
ВКО	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 флакон (5000 мкл)
ПКО	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка (700 мкл)
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 пробирка (700 мкл)
ОКО для выделения	Прозрачная бесцветная жидкость, 1 флакон (5000 мкл)
1.2. Комплектность	Комплект включает: набор реагентов, паспорт. Состав: 2 флакона объёмом 10 мл, 2 пробирки объёмом 1,5 мл, 2 пробирки объёмом 2 мл.
1.3. Маркировка	Наличие на пробирках, флаконах и вторичной (потребительской) упаковке. Этикетки из клеящей бумаги по ГОСТ 7625-86.
1.4. Упаковка	Первичная упаковка- отдельные пластиковые флаконы 10 мл, пластиковые пробирки 1,5 мл и 2

мл.
Вторичная упаковка-
упаковочный пакет с защелкой zip lock из
полимерной пленки.

2. Функциональные характеристики

Положительный результат с ПКО	Регистрация роста сигнала флуоресценции в пробирках с ПКО по каналам FAM и HEX $Ct \leq 35$.
Отрицательный результат с ОКО	В пробирках с ОКО по каналам FAM и HEX Ct не указан

6. Меры предосторожности при работе с набором

Все составные части и реагенты, входящие в состав набора реагентов «СОП-Экстра-контроль», относятся к 4 классу опасности (вещества малоопасные) в соответствии с ГОСТ 12.1.007-76 «ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».

Реагенты, входящие в набор «СОП-Экстра-контроль», обладают низкой упругостью пара и исключают возможность ингаляционного отравления.

Реагенты, входящие в набор «СОП-Экстра-контроль», не токсичны, поскольку готовятся путём смешивания отдельных нетоксичных компонентов.

Необходимо одновременно обеспечить и соблюдать персоналом правила биологической безопасности и требования к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб помещений и оборудования.

Работа должна проводиться с соблюдением санитарно-эпидемических правил 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».

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- удалять неиспользованные реактивы в соответствии СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования 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»;

ВНИМАНИЕ! При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны оборудования и реагентов.

- применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции;

- допускать к работе с набором только сотрудников производственной лаборатории ООО «ТестГен», инженера ТБ, ознакомленных с технологической инструкцией по производству набора реагентов «НК-Экстра-plate», инструкциями по охране труда ООО «ТестГен»;

- не использовать набор по истечении срока годности;

- избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть поражённое место водой и обратиться за медицинской помощью.

Необходимых мер предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки, источников термического воспламенения не предусмотрено.

В составе набора отсутствуют вещества человеческого или животного происхождения, обладающие потенциально инфекционной природой, поэтому меры предосторожности против любых специальных, несвойственных рисков при использовании или реализации изделия не предусмотрены.

7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором реагентов

Работа с набором реагентов «СОП-Экстра-контроль» осуществляется в рабочей зоне для приготовления реакций (МУ 1.3.2569-09).

Оборудование для проведения реакции ОТ-ПЦР:

1. ПЦР-бокс (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», «Ламинарные системы», Россия).
2. Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
3. Набор электронных или автоматических дозаторов переменного объёма (типа «Eppendorf», Германия).
4. Холодильник от +2 до +8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
5. Амплификатор «ДТпрайм» («ДНК – Технология», Россия).

Материалы и реагенты, не входящие в состав изделия:

1. Одноразовые наконечники с аэрозольным барьером до 1000 мкл, до 200 мкл, до 100 мкл, до 20 мкл и до 10 мкл. (например, «Axygen», США).
2. Штативы для наконечников (например, «Axygen», США) и микропробирок на 0,2 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия).
3. Отдельный халат и одноразовые перчатки.
4. Ёмкость с крышкой для дезинфицирующего раствора.
5. Одноразовые полипропиленовые пробирки для ПЦР на 0,2 мл (куполообразная крышка) («Axygen», США).

8. Анализируемые образцы

Тип анализируемого образца

Объектом исследования служат пробы контрольного образца (КО) и отрицательного контрольного образца (ОКО).

Контрольный образец (КО), представляет собой внутренний контрольный образец (ВКО), входящий в состав набора «СОП-Экстра-контроль» (производства ООО «ТестГен», Россия). Внутренний контрольный образец (ВКО) представляет собой смесь плазмиды pUC19 с концентрацией 100 частиц/мкл и РНК, упакованной в капсид бактериофага с концентрацией 100 частиц/мкл.

Отрицательный контрольный образец (ОКО), входящий в состав набора «СОП-Экстра-контроль» (производства ООО

«ТестГен», Россия), представляет собой деионизованную стерильную воду, свободную от ДНКаз/РНКаз.

ОКО проходит этап выделения набором реагентов «НК-Экстра-plate» с последующим проведением контрольной ПЦР.

9. Процедура выделения нуклеиновых кислот из исследуемых образцов КО и ОКО с использованием набора «НК-Экстра-plate»

Выделение ДНК/РНК проводят согласно инструкции к набору из 100 мкл исследуемых образцов КО и ОКО, согласно п. 8. После проведения процедуры выделения контрольный образец (КО) тщательно перемешать на вортексе.

Для контрольного образца и ОКО приготовить промаркировать по две одноразовые пробирки объемом 1,5-2 мл.

1. Аккуратно перемешать буфер для связывания: раствор для промывки №1, раствор для промывки №2 и элюент, входящие в состав набора «НК-Экстра-plate» переворачивая флаконы по 10 раз.

2. Внести в пробирки с ВКО и ОКО по 500 мкл буфера для связывания и перемешать на вортексе в течение 5 секунд.

3. Прогреть пробирки при температуре 70°C в течение 5 мин., перемешивая на вортексе в течение 5 сек. через каждые минуты инкубации.

4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с магнитными частицами на вортексе. Сбросить капли со стенок пробирки, а затем дополнительно перемешать пипетированием использованием дозатора.

5. В пробирках с образцами, после инкубации (п. 3), сбросить капли коротким центрифугированием, добавить в каждую пробирку по 10 мкл суспензии магнитных частиц и перемешать на вортексе в течение 5 сек.

6. Инкубировать пробирки при комнатной температуре в течение 10 минут, перемешивая раствор во время инкубации 2-3 раза на вортексе в течение 5 сек.

7. Поместить пробирки в магнитный штатив на 1,5-2 мин., удалить надосадочную жидкость с помощью дозатора или аспиратора.

8. Добавить в пробирки по 700 мкл раствора для промывки №1, плотно закрыть крышки, ресуспендировать магнитные частицы на вортексе и сбросить капли коротким центрифугированием.

9. Поместить пробирки в магнитный штатив на 1,5-2 мин, удалить надосадочную жидкость.

10. Добавить в пробирки по 700 мкл раствора для промывки №2, плотно закрыть крышки, ресуспендировать магнитные частицы на вортексе и сбросить капли коротким центрифугированием.

11. Поместить пробирки в магнитный штатив на 1,5-2 мин, удалить надосадочную жидкость.

12. Добавить в пробирки по 700 мкл раствора для промывки №2, плотно закрыть крышки, ресуспендировать магнитные частицы на вортексе и сбросить капли коротким центрифугированием.

13. Поместить пробирки в магнитный штатив на 1,5-2 мин, удалить надосадочную жидкость.

14. Поместить пробирки с открытыми крышками в термостат и инкубировать при 70 °C в течение 5 минут.

15. Добавить в каждую пробирку с образцами, используя отдельный наконечник с фильтром, по 50 мкл элюента, тщательно ресуспендировать магнитные частицы пипетированием, плотно закрыть крышки.

16. Поместить пробирки в термостат при температуре 70°C на 10 мин, перемешивая содержимое каждые 2 мин.

17. Осадить капли коротким центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив на 1,5-2 мин.

18. Надосадочную жидкость, содержащую ДНК/РНК, перенести в чистые, промаркированные пробирки и использовать для постановки реакции ОТ-ПЦР.

10. Проведение ОТ-ПЦР набором реагентов «СОП-Экстра-контроль»

Исследование проводится по следующей схеме:

Приготовить и промаркировать 7 пробирок для ОТ-ПЦР н₁ 0,1-0,2 мл согласно таблице 4.

Таблица 4 – Расположение и состав пробирок для ОТ-ПЦР

№ ПЦР-пробирки	Образец	Назначение
1	КО, прошедший этап выделения ДНК/РНК набором «НК-Экстра-plate»	Контроль эффективности выделения ДНК/РНК
2	КО, прошедший этап выделения ДНК/РНК набором «НК-Экстра-plate»	Контроль эффективности выделения ДНК/РНК
3	ОКО, прошедший этап выделения ДНК/РНК набором «НК-Экстра-plate»	Контроль отсутствия контаминации компонентов набора посторонними ДНК/РНК
4	ОКО, прошедший этап выделения ДНК/РНК набором «НК-Экстра-plate»	Контроль отсутствия контаминации компонентов набора посторонними ДНК/РНК
5	ОКО, прошедший этап выделения ДНК/РНК набором «НК-Экстра-plate»	Контроль отсутствия контаминации компонентов набора посторонними ДНК/РНК
6	ПКО из набора «СОП-Экстра-контроль»	ПКО из набора «СОП-Экстра-контроль»
7	ОКО из набора «СОП-Экстра-контроль» (не проходит этап выделения ДНК/РНК)	ОКО из набора «СОП-Экстра-контроль»

1. Приготовить мастермикс: смешать в отдельной пробирке 40 мкл ОТ-ПЦР-буфера и 40 мкл Праймер-микса входящих в состав набора «СОП-Экстра-контроль».

2. Внести во все пробирки по 10 мкл мастермикса.

3. Внести в пробирки 1-2 по 15 мкл КО, прошедшего этап выделения набором «НК-Экстра-plate».

4. Внести в пробирки 3-5 по 15 мкл ОКО, прошедшего этап выделения набором «НК-Экстра-plate».

5. Внести 15 мкл ПКО из набора «СОП-Экстра-контроль-1» в пробирку 6.

6. Внести 15 мкл ОКО (не проходит этап выделения ДНК/РНК) из набора «СОП-Экстра-контроль» в пробирку 7.

7. Для сброса капель со стенок отцентрифугировать пробирки в течение 1-3 секунд на микроцентрифуге-вортексе.

Для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» используют амплификатор планшетного типа «ДТпрайм» («ДНК – Технология», Россия), регистрационное удостоверение № ФСР 2011/10228 от 03 марта 2011 г.

Установить пробирки в реакционный модуль прибора для ПЦР в «реальном времени». Рекомендуется устанавливать пробирки по центру термоблока для равномерного прижима пробирок нагревающей крышкой.

Запрограммировать прибор для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала, соблюдая инструкцию для используемого прибора. Протокол ОТ-ПЦР указан в таблице 5.

Таблица 5 – Протокол ОТ-ПЦР

Стадия	Температура, °С	Время, мин:сек	Каналы детекции	Всего циклов
1	52	40:00		1
2	95	02:00		1
3	95	00:15		50
	64	00:20	FAM, HEX	

Указать количество и идентификаторы образцов, отметить расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой.

Удостовериться, что в параметрах оптических измерений программы амплификации задействованы каналы детекции FAM и HEX.

Запустить ОТ-ПЦР с детекцией флуоресцентного сигнала.

По окончании выполнения программы приступить к анализу результатов.

Регистрацию результатов проводят с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР с детекцией в режиме «реального времени». Анализируют наличие

кривых накопления флуоресцентного сигнала и фиксируют пороговые циклы (Ct) прохождения реакции по каналам FAM и HEX.

11. Регистрация и интерпретация результатов

Регистрацию результатов проводят по завершении ОТ-ПЦР автоматически с помощью программного обеспечения используемого прибора.

Принцип интерпретации результатов отражён в таблице 6 и выполняется в следующем порядке:

11.1. Интерпретация результатов в положительном контрольном образце.

Набор «НК-Экстра-plate» считают годным при значении Ct в ПКО из набора «СОП-Экстра-контроль» не более 32 цикла по каналам FAM и HEX.

11.2. Интерпретация результатов в отрицательном контрольном образце

Набор «НК-Экстра-plate» считают годным при отсутствии подъема кривой амплификации в пробирках с ОКО (не проходящий этап выделения ДНК/РНК) из набора «СОП-Экстра-контроль» по канал FAM и HEX (то есть график накопления флуоресценции отсутствует).

11.3. Интерпретация результатов по проведению проверки отсутствия контаминации компонентов набора посторонним ДНК/РНК

Набор «НК-Экстра-plate» считают годным, если по результатам реакции Ct ОКО, прошедшем этап выделения ДНК/РНК, по каналам FAM и HEX не указан (то есть график накопления флуоресценции отсутствует), что свидетельствует об отсутствии контаминации компонентов набора посторонними ДНК/РНК.

11.4. Интерпретация результатов по проведению проверки эффективности выделения ДНК/РНК.

Набор «НК-Экстра-plate» считают годным при значении Ct КО, прошедшем этап выделения ДНК/РНК, по каналам FAM и HEX не более 30 цикла и значении Δ Ct между выходом КО и ПКО по каналам FAM и HEX не более 2 циклов, что свидетельствует о том, что соответствует эффективности выделения ДНК/РНК не менее 25%.

Таблица 6 – Результаты контроля, соответствующие норме

№ пп	Показатель	Значение порогового цикла (Ct) по оптическим каналам	
		FAM	HEX
1	КО, прошедший этап выделения ДНК/РНК набором «НК-Экстра-plate»	Ct≤30	Ct≤30
2	Δ Ct между КО и ПКО	≤2	≤2
3	ОКО, прошедший этап выделения ДНК/РНК набором «НК-Экстра-plate»	-	-
4	ПКО из набора «СОП-Экстра-контроль»	Ct≤32	Ct≤32
5	ОКО из набора «СОП-Экстра-контроль» (не проходит этап выделения ДНК/РНК)	-	-

12. Условия хранения, транспортирования и эксплуатации набора реагентов

Условия хранения: Набор реагентов «СОП-Экстра-контроль» в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре не выше минус 20 °С в течение всего срока годности набора.

Не допускается замораживание реагентов.

После вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Условия транспортирования: Транспортировать набор реагентов «СОП-Экстра-контроль» следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Набор реагентов транспортировать при температуре минус 20 °С в течение всего срока годности набора. Допускается транспортировка при температуре +4 °С до 10 суток, при комнатной температуре (15-25 °С) не более двух суток. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.

Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

13. Утилизация

Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации 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».

В соответствии с классификацией медицинских отходов наборы относятся к классу А (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твёрдым бытовым отходам). Неиспользованные реактивы в соответствии с п. 4 п. 170 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» собираются в многоразовые емкости или одноразовые пакеты любого цвета (кроме жёлтого и красного).

Оставшиеся после выполнения работ пробирки и материалы утилизируют в соответствии с МУ 287-113 (Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения).

Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожаются сливом в канализацию с предварительным разбавлением реагента водопроводной водой 1:100 и вывозом остатков упаковок как производственный или бытовой мусор.

Потребительская упаковка набора реагентов «СОП-Экстра-контроль» подлежит механическому разрушению с вывозом остатков как производственного или бытового мусора.

Персонал, осуществляющий уничтожение набора реагентов, должен соблюдать правила безопасности проведения того или иного способа уничтожения.

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью

10 (десять) листов

Должность: ген. директор
Тороповский А.Н.





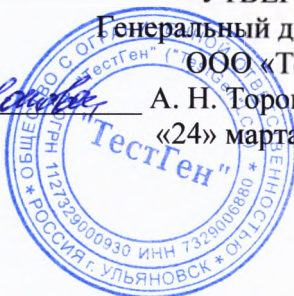
УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «ТестГен»

А. Н. Тороповский

«24» марта 2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для одновременного выделения ДНК/РНК из
96 клинических образцов «НК-Экстра-plate»

ТУ 21.20.23-031-97638376-2020

Содержание

Введение	4
1. Назначение.....	5
2. Принцип метода	6
3. Состав набора реагентов	7
4. Характеристики набора реагентов	10
5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов «НК-Экстра-plate»	14
6. Меры предосторожности при работе с набором	14
7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором.....	16
8. Анализируемые пробы	18
9. Подготовка компонентов набора для исследования.....	30
10. Проведение исследования	31
11. Возможные проблемы и их решение	33
12. Условия хранения, транспортировки и эксплуатации набора	34
13. Утилизация	35
14. Гарантийные обязательства, контакты	36
Приложение А	37

Введение

Целевой анализ. Набор реагентов «НК-Экстра-plate» используется на этапе пробоподготовки к последующему анализу. Определение получаемой ДНК/РНК в качестве целевого анализа не предусмотрено.

Научная обоснованность.

Выделение ДНК/РНК – важный шаг подготовки проб. Многие методики, такие как амплификация, проведение обратной транскрипции, детектирование накопления продуктов амплификации методом ПЦР в реальном времени и др., не могут быть выполнены непосредственно на клинических образцах без предварительной очистки нуклеиновых кислот.

Выделение ДНК/РНК является преаналитическим этапом при выполнении генетического анализа, который используется для научных, медицинских целей, таких как диагностика наследственных заболеваний, выявление различных молекулярно-генетических маркеров, риска развития различных наследственных болезней, инфекций и т.д.

Область применения набора реагентов – клиническая лабораторная диагностика.

Показания и противопоказания к применению.

Показания к применению: Набор реагентов «НК-Экстра-plate» рекомендуется использовать для обеспечения преаналитической стадии проведения анализов в клинической лабораторной диагностике. Выделенная ДНК из венозной крови, плазмы венозной крови, мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, секрета предстательной железы и РНК, выделенная из мокроты, мазков из носоглотки, мазков из ротоглотки, клеточного осадка мочи, не является основой для постановки диагноза, однако может использоваться для последующего проведения анализов в клинической лабораторной диагностике при исследованиях методом обратной транскрипции (РНК), полимеразной цепной реакции (ДНК), в частности при диагностике новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 и прочих инфекций, а также в области онкологии.

Противопоказания к применению: при использовании специально обученным персоналом и с учетом применения по назначению противопоказания не выявлены.

1. Назначение

Назначение: Набор реагентов «НК-Экстра-plate» предназначен для выделения ДНК из венозной крови, плазмы венозной крови, мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, секрета предстательной железы и выделения РНК из мокроты, мазков из носоглотки, мазков из ротоглотки, клеточного осадка мочи методом, основанном на обратимом связывании нуклеиновых кислот с поверхностью магнитных частиц, для последующего проведения анализов в клинической лабораторной диагностике методом обратной транскрипции (РНК), полимеразной цепной реакции (ДНК).

Функциональное назначение: набор реагентов «НК-Экстра-plate» предназначен для обеспечения преаналитической стадии молекулярно-генетического анализа. Выделенная ДНК из венозной крови, плазмы венозной крови, мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, секрета предстательной железы и РНК, выделенная из мокроты, мазков из носоглотки, мазков из ротоглотки, клеточного осадка мочи, не является основой для постановки диагноза, однако может использоваться для последующего проведения анализов в клинической, лабораторной диагностике при исследованиях методом обратной транскрипции (РНК), полимеразной цепной реакции (ДНК), в частности при диагностике новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 и прочих инфекций, а также в области онкологии.

Например, при последующем проведении анализов выделенной ДНК/РНК могут совместно применяться следующие медицинские изделия:

- Набор реагентов для качественного выявления РНК коронавируса (SARS-CoV-2) методом ОТ-ПЦР в реальном времени «CoV-2-Тест» по ТУ 21.20.23-015-97638376-2020, производства

ООО «ТестГен» (регистрационное удостоверение № РЗН 2020/10364 от 15 мая 2020 года);

- Набор реагентов для выявления мРНК гена *PCa3* и определения уровня его экспрессии методом двустадийной ОТ-ПЦР-РВ (Проста-Тест) по ТУ 9398-003-97638376-2015, производства ООО «ТестГен» (регистрационное удостоверение № РЗН 2017/6537 от 04 декабря 2017 года).

Потенциальные потребители медицинского изделия

Набор предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клиничко-диагностических лабораториях. Профессиональный уровень потенциальных пользователей – врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник.

2. Принцип метода

Тип анализируемого образца

Материалом для проведения процедуры выделения ДНК служат венозная кровь, плазма венозной крови, мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб из цервикального канала, соскоб из уретры, секрет предстательной железы. Материалом для проведения процедуры выделения РНК служат мокрота, мазки из носоглотки, мазки из ротоглотки, клеточный осадок мочи.

Принцип метода

Принцип используемого в наборе метода основан на обратимом связывании нуклеиновых кислот с поверхностью магнитных частиц. После лизиса образца содержащиеся в нем нуклеиновые кислоты связываются с магнитными частицами. Затем они должны быть отмыты растворами для промывки №1 и №2, входящими в состав набора. После нескольких циклов отмытки осадок магнитных частиц должен быть высушен, затем нуклеиновые кислоты можно элюировать.

Функциональные возможности набора позволяют использовать его для одновременного выделения ДНК/РНК из 96 клинических образцов ручным методом, который заключается в использовании специализированного оборудования: многоканального дозатора или степпера, медицинского

отсасывателя, магнитного штатива и термостата для глубоколоночных планшетов. Данный подход позволяет упростить и ускорить процедуру выделения ДНК/РНК одновременно из 96 образцов.

Ограничения метода

Возможна контаминация клинического материала на этапе пробоподготовки либо на этапе выделения ДНК/РНК.

Нарушение целостности упаковки при транспортировании.

Использование набора с истекшим сроком годности или условий хранения набора.

Нарушение условий хранения и транспортирования образцов.

Общее время проведения процедуры выделения ДНК/РНК:

- набором реагентов «НК-Экстра-plate» при одновременном выделении из 96 образцов и использовании двух дополнительных 96-луночных планшетов (п. 7) составляет 40 минут, без учета пробоподготовки;

- набором реагентов «НК-Экстра-plate» при одновременном выделении из 96 образцов и без использования двух дополнительных 96-луночных планшетов (п. 7) составляет 90–120 минут.

3. Состав набора реагентов

Набор реагентов выпускается в двух формах комплектации:

1) Форма комплектации 1

2) Форма комплектации 2

Количество анализируемых проб

Набор реагентов «НК-Экстра-plate» предназначен для однократного применения, количество реагентов рассчитано на выделение ДНК/РНК из 96 анализируемых образцов.

Состав набора

Таблица 1 – Состав набора реагентов «НК-Экстра-plate»,
Форма комплектации 1

№ пп	Наименование компонента	Сокращен ное наименован ие	Описание	Количество
1	Буфер для связывания	-	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок желтого цвета	1 флакон, 48 мл
2	Магнитные частицы	МЧ	Коричневая суспензия	1 пробирка, 960 мкл
3	Раствор для промывки №1	-	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон, 58 мл
4	Раствор для промывки №2	-	Прозрачная бесцветная жидкость	2 флакона, по 68 мл
5	Элюент	-	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон, 10 мл
6	Глубоколуночный планшет, 96 лунок, для KingFisher Flex/Duo Prime	-	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный глубокий планшет объемом 2200 мкл	1 шт.
7	Ванночки для реактивов	-	Пустые белые ванночки объемом 60 мл.	4 шт.

Примечание: Эксплуатационная документация (инструкция по применению и паспорт качества) не входит в состав изделия, но входит в комплект поставки изделия. Набор реагентов, для обеспечения соблюдения условий транспортирования, упаковывается в коробку из картона, туда же помещается инструкция по применению и паспорт качества на каждую поставляемую партию изделия.

Таблица 2 – Состав набора реагентов «НК-Экстра-plate»,
Форма комплектации 2

№ пп	Наименование компонента	Сокраще нное наименов ание	Описание	Количес тво
1	Буфер для связывания	-	Прозрачная бесцветная жидкость, может иметь оттенок желтого цвета	1 флакон, 48 мл
2	Магнитные частицы	МЧ	Коричневая суспензия	1 пробирка, 960 мкл
3	Раствор для промывки №1	-	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон, 58 мл
4	Раствор для промывки №2	-	Прозрачная бесцветная жидкость	2 флакона, по 68 мл
5	Элюент	-	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон, 10 мл
6	Глубоколуночный планшет, 96 лунок, для KingFisher Flex/Duo Prime	-	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный глубокий планшет объемом 2200 мкл	1 шт.
7	Ванночки для реактивов	-	Пустые белые ванночки объемом 60 мл	4 шт.
8	Магнитный штатив для глубоколуночных планшетов	-	Магнитный штатив на 96 лунок для выделения ДНК/РНК из глубоколуночных планшет с объемом лунки до 2 мл	1 шт.

Примечание: Эксплуатационная документация (инструкция по применению и паспорт качества) не входит в состав изделия, но входит в комплект поставки изделия. Комплект набора реагентов, для обеспечения соблюдения условий транспортирования, упаковывается в коробку из картона, туда же помещается инструкция по применению и паспорт качества на каждую поставляемую партию изделия.

В наборе для выделения не используются калибраторы и контрольные материалы.

В составе набора отсутствуют лекарственные средства для медицинского применения, вещества человеческого или животного происхождения.

Примечание: изделие не содержит другие ингредиенты, которые могут оказать влияние на проведение процедуры.

4. Характеристики набора реагентов

4.1 Технические и функциональные характеристики

Таблица 3 – Технические и функциональные характеристики набора реагентов «НК-Экстра-plate»

Наименование показателя	Характеристики и нормы
1. Технические характеристики	
1.1. Внешний вид	
1.1.1 Форма комплектации 1	
Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость
Магнитные частицы	Коричневая суспензия
Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость
Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость
Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость
Глубоколуночный планшет, 96 лунок, для KingFisher Flex/Duo Prime	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный глубокий планшет объемом 2200 мкл
Ванночки для реактивов	Белые полистироловые ванночки объемом 60 мл в количестве 4 штуки.
1.1.2 Форма комплектации 2	
Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость
Магнитные частицы	Коричневая суспензия
Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость
Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость
Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость
Глубоколуночный планшет, 96 лунок, для KingFisher Flex/Duo Prime	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный глубокий планшет объемом 2200 мкл
Ванночки для реактивов	Белые полистироловые ванночки объемом 60 мл в количестве 4 штуки.
Магнитный штатив для глубоколуночных планшетов	Магнитный штатив на 96 лунок для выделения ДНК/РНК из

	глубоколуночных планшет с объемом лунки до 2 мл
1.2. Физико-химические показатели	
Показатели концентрации ионов водорода, pH	
Буфер для связывания	min 6,0 pH, max 8,0 pH
Раствор для промывки №1	min 6,0 pH, max 8,0 pH
Раствор для промывки №2	min 6,0 pH, max 8,0 pH
1.3. Комплектность	В соответствии с п. 1.4 ТУ 21.20.23-031-97638376-2020
1.4. Маркировка	В соответствии с п. 4 ТУ 21.20.23-031-97638376-2020
1.5. Упаковка	В соответствии с п. 5 ТУ 21.20.23-031-97638376-2020
2. Функциональные характеристики	
2.1 Чистота выделения ДНК/РНК, A260/280, не менее	1,7
2.2. Отсутствие контаминации компонентов набора посторонними ДНК и РНК	Отрицательный результат с ОКО в контрольной ПЦР
2.3. Эффективность выделения ДНК/РНК, %, не менее	25

Примечание: при проведении контрольной ПЦР в качестве отрицательного контрольного образца (ОКО) используют деионизованную стерильную воду, свободную от ДНКаз/РНКаз. В качестве контрольного образца используют смесь плазмиды и РНК, упакованной в капсид бактериофага.

4.2 Воспроизводимость и повторяемость результатов, получаемых при использовании набора реагентов.

Коэффициент вариации результатов, получаемых при использовании набора реагентов в условиях воспроизводимости, составляет не более 3%.

Коэффициент вариации результатов, получаемых при использовании набора реагентов в условиях повторяемости, составляет не более 3%.

4.3 Характеристики клинической эффективности

По результатам проведенных клинических испытаний подтверждена эффективность медицинского изделия при использовании его в соответствии с назначением путем проведения клинико-лабораторных испытаний методом обратной транскрипции (РНК), полимеразной цепной реакции (ДНК) с образцами выделенного препарата нуклеиновых кислот из 211 образцов клинического материала (ДНК из венозной крови, плазмы венозной крови, мазков со слизистой оболочки влагалища, соскобов из цервикального канала, соскобов из уретры, секрета предстательной железы; РНК из мокроты, мазков из носоглотки, мазков из ротоглотки, клеточного осадка мочи) с использованием зарегистрированных медицинских изделий для диагностики *in vitro*.

Для оценки межсерийной сходимости процедура выделения ДНК/РНК из образцов клинического материала была проведена в двух сериях каждой формы комплектации исследуемого медицинского изделия.

Для статистической обработки данных клинико-лабораторных испытаний использовали метод Клоппера и Пирсона (Clopper-Pearson Confidence Interval; Clopper, C., & Pearson, E. (1934). The Use of Confidence or Fiducial Limits Illustrated in the Case of the Binomial. *Biometrika*, 26(4), 404-413. doi:10.2307/2331986).

Результаты изучения диагностических характеристик для всех форм комплектаций исследуемого медицинского изделия по образцам клинического материала приведены в таблице 4. Нижняя граница доверительного интервала определена по методу Клоппера и Пирсона.

Таблица 4 – Результаты клинических испытаний

Тип исследуемого материала	Аналит	Форма комплектации	Диагностические характеристики	Количество проб	Количество наблюдений	ДИ с доверительной вероятностью 95%
Венозная кровь	ДНК	Форма комплектации 1	100%	27	54	100% (95% ДИ:93,40%-100%)
		Форма комплектации 2	100%	27	54	100% (95% ДИ:93,40%-100%)

Плазма венозной крови	ДНК	Форма комплектации 1	100%	27	54	100% (95% ДИ:93,40%-100%)
		Форма комплектации 2	100%	27	54	100% (95% ДИ:93,40%-100%)
Мокрота	РНК	Форма комплектации 1	100%	28	56	100% (95% ДИ:93,62%-100%)
		Форма комплектации 2	100%	28	56	100% (95% ДИ:93,62%-100%)
Мазки из носоглотки	РНК	Форма комплектации 1	100%	21	42	100% (95% ДИ:91,59%-100%)
		Форма комплектации 2	100%	21	42	100% (95% ДИ:91,59%-100%)
Мазки из ротоглотки	РНК	Форма комплектации 1	100%	26	52	100% (95% ДИ:93,15%-100%)
		Форма комплектации 2	100%	26	52	100% (95% ДИ:93,15%-100%)
Мазки со слизистой оболочки влагалища	ДНК	Форма комплектации 1	100%	21	42	100% (95% ДИ:91,59%-100%)
		Форма комплектации 2	100%	21	42	100% (95% ДИ:91,59%-100%)
Соскоб из цервикального канала	ДНК	Форма комплектации 1	100%	19	38	100% (95% ДИ:90,75%-100%)
		Форма комплектации 2	100%	19	38	100% (95% ДИ:90,75%-100%)
Соскоб из уретры	ДНК	Форма комплектации 1	100%	15	30	100% (95% ДИ:88,43%-100%)
		Форма комплектации 2	100%	15	30	100% (95% ДИ:88,43%-100%)
Клеточный осадок мочи	РНК	Форма комплектации 1	100%	15	30	100% (95% ДИ:88,43%-100%)
		Форма комплектации 2	100%	15	30	100% (95% ДИ:88,43%-100%)

Секрет предстательной железы	ДНК	Форма комплектации 1	100%	12	24	100% (95% ДИ:85,75%- 100%)
		Форма комплектации 2	100%	12	24	100% (95% ДИ:85,75%- 100%)

5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов «НК-Экстра-plate»

В пограничную зону риска вошли опасности:

- потеря функциональных свойств реагентов, входящих в состав набора, из-за транспортирования, хранения или эксплуатации в несоответствующих условиях,
- наличие загрязняющих примесей в полученных препаратах выделенных ДНК и РНК,
- проведение процедуры выделения ДНК/РНК из недостаточного количества клинического материала,
- невыполнение требований по пробоподготовке, проведению анализов и утилизации, вследствие работы с набором неквалифицированным персоналом,
- использование непригодного для применения набора (использование по истечении срока годности или при нарушении упаковки).

В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Совокупный остаточный риск применения медицинского изделия набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала ручным методом «НК-Экстра-plate», производства ООО «ТестГен», является допустимым, польза от его применения превышает риск.

6. Меры предосторожности при работе с набором

Класс в зависимости от потенциального риска применения – 2а в соответствии с номенклатурной классификацией медицинских изделий, утверждаемой приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 06.06.2012 N 4н.

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического

материала, с соблюдением требований СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней", МУ «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09).

При работе всегда следует выполнять следующие требования:

- следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней";
- убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней";
- лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Выделения, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса;
- неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы следует удалять 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»;
- использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов;

▪ поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в соответствии с принятыми нормами;

▪ применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции;

▪ допускать к работе с набором только специально обученный персонал;

▪ не использовать набор по истечении срока годности;

▪ не использовать набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка, или внешний вид реагента не соответствует описанию;

▪ использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реактивами, тщательно мыть руки по окончании работы;

▪ все компоненты набора нетоксичны для человека в используемых концентрациях. При попадании на кожу или слизистые оболочки компонентов набора место контакта необходимо промыть большим количеством воды.

Необходимых мер предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий, электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки, источников термического воспламенения не предусмотрено.

В составе набора отсутствуют вещества человеческого или животного происхождения, обладающие потенциальной инфекционной природой, поэтому меры предосторожности против любых специальных, несвойственных рисков при использовании или реализации изделия не предусмотрены.

7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором

Оборудование:

1. Стерильный ламинарный бокс биологической (микробиологической) безопасности II класс;
2. Аспиратор с колбой-ловушкой,

3. При использовании формы комплектации 1: Магнитный штатив для глубоколоночных планшетов на 96 лунок для выделения ДНК/РНК из глубоколоночных планшет с объемом лунки до 2 мл.
4. Контроллер ручной для аспиратора с возможностью регулирования скорости отсасывания.
5. Термостат (термошейкер) для глубоколоночных планшетов от +25 °С до +100 °С с 800 rpm,
6. Отдельный набор автоматических многоканальных дозаторов позволяющих отбирать объёмы жидкости 100–1000 мкл.
7. Отдельный набор одноканальных дозаторов переменного объема,
8. Холодильник от +2°С до +8°С,
9. Морозильная камера от -2 °С до -10 °С.

Материалы и реагенты, не входящие в состав изделия:

1. Одноразовые наконечники для многоканальных дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером 100 мкл и 1000 мкл свободные от посторонней ДНК/РНК и ДНКаз/РНКаз,
2. Одноразовые или отдельные халаты и одноразовые перчатки,
3. Емкости с дезинфицирующим раствором,

Дополнительно могут быть использованы:

1. Морозильник от -45 °С до -70 °С в случае необходимости длительного хранения материала.
2. Степпер механический или электронный (например, Multipette M4, Eppendorf).
3. Набор реагентов для стабилизации РНК в биопробах СТОР-ЭКС по ТУ 9398-099-46482062-2017 производства ООО «ДНК-Технология ТС» (Регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7775 от 08.11.2018) или аналогичный, предназначенный для сохранения и транспортировки биоматериала с одновременной стабилизацией РНК.
4. Планшет глубоколоночный (Deepwell Plate) на 96 лунок, производства Eppendorf, Германия (Регистрационное

удостоверение № ФСЗ 2009/04520 от 19 июня 2009 года) – 2 шт.

5. Стерильный физиологический раствор (0,9% NaCl),
6. Деионизованная стерильная вода, свободная от ДНКа/РНКа.

При выделении из мокроты:

7. 10% раствор трехзамещенного фосфорнокислого натрия,
8. 1М раствор HCl,
9. 5% раствор хлорамина,
10. Муколизин.

Использование других материалов и реагентов, не входящие в состав изделия, не предусмотрено.

Измерительное оборудование при эксплуатации набора не требуется.

8. Анализируемые пробы

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2012г.

Условия транспортирования и хранения исходного клинического материала.

Таблица 5 – Условия хранения и транспортировки клинического материала

Тип образца	Требования к сбору материала	Условия хранения и транспортирования материала
Венозная кровь	Кровь отбирают в пробирку с добавленной в качестве антикоагулянта CPDA или EDTA-K2.	Транспортирование: При использовании пробирок с CPDA в качестве антикоагулянта – 24 часа при температуре от +2 до +8 °С. При использовании пробирок с EDTA-K2 в качестве антикоагулянта, кровь необходимо доставить в лабораторию в течение 24 часов. ВНИМАНИЕ! Важно исключить замораживание и прогрев

		пробирки с кровью выше 25 °С. Условия хранения: Цельная кровь, собранная в пробирки, содержащие EDTA-K2 (этилендиаминтетрауксусную кислоту) или CPDA в качестве антикоагулянтов, хранится при температуре от +2 до +8°С – не более 24 часов. В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала. Допускается хранение замороженного материала при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение 6 месяцев.
Плазма венозной крови	Для получения плазмы периферическую венозную кровь отбирают в пробирку с добавленной в качестве антикоагулянта CPDA или EDTA-K2.	При использовании пробирок с CPDA в качестве антикоагулянта с момента взятия крови и получения плазмы, должно пройти не более 48 часов. При использовании пробирок с EDTA-K2 в качестве антикоагулянта с момента взятия крови и до получения плазмы должно пройти не более 2-3 часов. Условия хранения: - при температуре 2-8 °С - в течение 5 суток; - при температуре минус 20 °С – в течение месяца; - при температуре минус 70 °С – длительно. ВНИМАНИЕ! Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.
Мокрота	Взятие материала осуществляют в количестве	При комнатной температуре - в течение 6 часов;

	не менее 1,0 мл в одноразовые градуированные стерильные флаконы с широким горлом и закручивающимися крышками объемом не менее 50 мл	- при температуре 2-8 °С - в течение 3 суток; - при температуре минус 20 °С – в течение 1 недели; - при температуре минус 70 °С – длительно. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала. Требуется предварительная обработка проб.
Мазки из носоглотки	Мазки (слизь) берут сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе. Тампон вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2–3 см до нижней раковины. Затем тампон слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку со специальной транспортной средой (или 500 мл стерильного физиологического раствора) и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой.	- при комнатной температуре – в течение 6 ч; - при температуре 2–8°С – в течение 3 суток; - при температуре минус 20°С – в течение 1 месяца; - при температуре минус 70°С – длительно. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала
Мазки из ротоглотки	Мазки берут сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой	- при комнатной температуре – в течение 6 ч; - при температуре 2–8°С – в

	основе вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку со специальной транспортной средой (или 500 мл стерильного физиологического раствора) и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой.	течение 3 суток; - при температуре минус 20°С – в течение 1 месяца; - при температуре минус 70°С – длительно. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала
Мазки со слизистой оболочки влагалища	Материал должен быть взят до проведения мануального исследования. Зеркало перед манипуляцией можно смочить горячей водой, применение антисептиков для обработки зеркала противопоказано. Мазок берут с заднебокового свода влагалища. У девочек взятие материала производят со слизистой оболочки преддверия влагалища, а в отдельных случаях – из заднего свода влагалища через гименальные кольца.	Транспортирование: 24 часа при температуре от +2 до +8 °С. В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала. Условия хранения: - при +2 ... +8 °С – не более 24 ч. - при -18 ... -22 °С – не более месяца.
Соскоб из цервикального канала	Перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором. Зонд вводят в цервикальный канал на глубину 0,5-1,5 см. При	Транспортирование: 24 часа при температуре от +2 до +8 °С. В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала. Условия хранения:

	извлечении зонда необходимо полностью исключить его касание стенок влагалища.	- при +2 ... +8 °С – не более 24 ч. - при -18 ... -22 °С – не более месяца.
Соскоб из уретры	Женщины накануне обследования не должны проводить туалет половых органов и спринцевание. Перед взятием клинического материала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5-2 ч. Непосредственно перед взятием клинического материала необходимо обработать наружное отверстие уретры тампоном, который можно смочить стерильным физиологическим раствором. При наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15-20 мин. после мочеиспускания, при отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия клинического материала. В уретру у женщин зонд вводится на глубину 1,0-1,5 см, у детей материал для исследования берут только с наружного отверстия уретры.	Транспортирование: 24 часа при температуре от +2 до +8 °С. В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала. Условия хранения: - при +2 ... +8 °С – не более 24 ч. - при -18 ... -22 °С – не более месяца.
Клеточный осадок мочи	Взятие первых струй мочи объемом 20-50 мл в стерильную промаркированную емкость проводится в течение 1 часа после массажа предстательной железы.	Транспортирование: Транспортировка образцов цельной мочи и полученного из нее клеточного осадка без раствора для стабилизации и сохранения РНК при +2...+8 °С до 3 суток. Условия хранения: - Без раствора для стабилизации и сохранения РНК при +2...+8 °С

		до 3 суток. Замораживание образцов <u>цельной мочи</u> категорически не допускается. - Осадки мочи в растворе для стабилизации и сохранения РНК - до 10 суток при +2...+8 °С. - Длительное хранение образцов (от 10 суток до года) рекомендуется проводить при температуре не выше минус 18 °С в растворе для стабилизации и сохранения РНК.
Секрет предстательной железы	Перед взятием секрета простаты головка полового члена обрабатывается стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором. Секрет простаты берется после предварительного массажа простаты через прямую кишку. Врач проводит массаж с надавливанием несколькими энергичными движениями от основания к верхушке. Затем из кавернозной части выдавливается простатический секрет, который собирается в стерильную емкость (сосуды с широким горлом, пробирки).	- при комнатной температуре – в течение 6 часов; - при температуре +2...+8 °С – в течение 1 суток; - при температуре минус 20°С – в течение 1 недели; - при температуре минус 70°С – длительно.

Для увеличения сроков хранения исследуемого материала в целях последующего выделения РНК, рекомендуется использовать набор реагентов для стабилизации РНК в биопробах СТОР-ЭКС по ТУ 9398-099-46482062-2017 производства ООО «ДНК-Технология ТС» (регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7775 от 08.11.2018), предназначенный для сохранения и транспортировки биоматериала с одновременной стабилизацией РНК. Образцы с реагентом для стабилизации РНК могут храниться в течение 48

часов при температуре +18...+25°C и в течение 7 суток при температуре +2...+8°C. Следует избегать многократного замораживания-оттаивания образцов в процессе хранения.

Процедура подготовки клинического материала к выделению нуклеиновых кислот.

8.1. Венозная кровь.

8.1.1. Взятие крови проводится в пластиковые пробирки объемом 2,5 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (EDTA) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия (CPDA).

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

8.1.2. Пробирку закрывают крышкой и аккуратно переворачивают 2-3 раза вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянтом (в противном случае кровь свернется, и выделение ДНК/РНК станет невозможным).

8.2. Плазма венозной крови.

8.2.1. Пробирки с кровью, полученной в п. 8.1, центрифугировать при 2 500 g в течение 15 минут при комнатной температуре (18-25°C).

8.2.2. Отобрать автоматическим дозатором верхнюю фракцию (плазму) и перенести в отдельную пластиковую пробирку объемом 1,5 мл. Полученная плазма готова для выделения ДНК/РНК.

8.3. Мокрота.

Способ 1

8.3.1. Примерно 500 мкл образца клинического материала перенести в стерильную посуду и плотно закрыть крышкой.

8.3.2. К пробе добавить равный объем 10% трехзамещенного фосфорнокислого натрия, интенсивно встряхнуть.

8.3.3. Смесь инкубировать в течение 18-24 ч при температуре 37°C, затем нейтрализовать 1M HCl до pH 6,8-7,4.

8.3.4. Центрифугировать в течение 20 минут при 1 000 g.

8.3.5. Надосадочную жидкость слить в 5% раствор хлорамина для обеззараживания.

8.3.6. Добавить к осадку 500 мкл дистиллированной воды, перемешать пипетированием и перенести в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

8.3.7. Центрифугировать пробирку при 13 000 g в течение 10 минут.

8.3.8. Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Полученный материал готов для выделения НК.

Способ 2

В контейнер с образцом добавить муколизин в соотношении 5:1 (5 частей муколизина к 1 части образца клинического материала), ориентируясь по градуировке контейнера. Закрутить крышку контейнера, встряхнуть содержимое и инкубировать 20-30 минут при комнатной температуре (18-25 °C), каждые 2-3 минуты встряхивая контейнер. Полученный материал готов для выделения НК. Обработанный образец допускается хранить в контейнере в течение суток при температуре +2...+8 °C или длительно при температуре не выше минус 16 °C (в случае необходимости повторного выделения РНК/ДНК).

8.4. Мазки из носоглотки, мазки из ротоглотки.

8.4.1. Центрифугировать пробирку, содержащую анализируемый материал, при 13 000 g в течение 10 минут.

8.4.2. Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция).

8.5. Мазки со слизистой оболочки влагиалища, соскоб из цервикального канала, соскоб из уретры.

8.5.1. Соскобы эпителиальных клеток с помощью одноразовых стерильных зондов перенести в пластиковые пробирки объемом 1,5 мл, содержащие 500 мкл физиологического раствора (в случае выделения ДНК) или 500 мкл консерванта для РНК (в случае выделения РНК), например, набор реагентов для стабилизации РНК в биопробах СТОР-ЭКС по ТУ 9398-099-46482062-2017 производства ООО «ДНК-Технология ТС» (регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7775 от 08.11.2018) или аналогичных, предназначенных для сохранения и транспортировки с одновременной стабилизацией РНК; аккуратно перемешать.

8.5.2. Зонд извлечь, прижимая его к стенке пробирки и отжимая избыток жидкости. Пробирку плотно закрыть. Полученный материал готов для выделения НК.

Примечание. Перед взятием соскоба из цервикального канала необходимо удалить слизь стерильным ватным тампоном.

8.6. Клеточный осадок мочи.

8.6.1. Порцию мочи (примерно 50 мл) следует собрать в стерильную посуду и плотно закрыть крышкой.

8.6.2. Стерильные, свободные от РНКаз промаркированные пластиковые центрифужные пробирки объемом 50, 15, 10 или 2 мл наполняют отобранными образцами мочи отдельными стерильными наконечниками.

8.6.3. Пробирки на 50, 15 или 10 мл центрифугируют при 3 000 g в течение 20 минут или при 5 000 g в течение 15 минут; пробирки на 2 мл допускается центрифугировать при 10 000 g в течение 5 минут.

8.6.4. Не задевая осадков, отдельными стерильными наконечниками удаляют надосадочную жидкость.

8.6.5. При использовании пробирок на 15, 10 или 2 мл, поверх осадков аккуратно настилают следующие порции мочи тех же образцов отдельными стерильными наконечниками, не допуская кросс-контаминации, повторяют пункты 2-4 до полного использования объемов мочи.

8.6.6. При необходимости хранения осадков более 3 суток в целях дальнейшего выделения РНК, отдельными стерильными наконечниками добавляют к осадкам (объемом 50-300 мкл) 1,0 мл раствора для стабилизации и сохранения РНК, аккуратно ресуспендируют осадки пипетированием. Рекомендуется использовать набор реагентов для стабилизации РНК в биопробах СТОР-ЭКС по ТУ 9398-099-46482062-2017 производства ООО «ДНК-Технология ТС» (регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7775 от 08.11.2018), предназначенный для сохранения и транспортировки биоматериала с одновременной стабилизацией РНК. Образцы с реагентом для стабилизации РНК могут храниться в течение 48 часов при температуре +18...+25°C и в течение 7 суток при температуре +2...+8°C. Следует избегать многократного замораживания-оттаивания образцов в процессе хранения.

8.6.7. При центрифугировании образцов в пробирках на 50, 15 или 10 мл, переносят полученные суспензии в промаркированные стерильные пластиковые пробирки объемом 1,5-2 мл отдельными стерильными наконечниками.

8.6.8. Помещают пробирки в холодильную камеру с температурой +2...+8°C (не допуская замораживания).

8.7. Секрет предстательной железы.

8.7.1. Перенести 20-30 мкл жидкого материала пипеткой в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл с консервантом (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного).

8.7.2. Центрифугировать пробирку при 16 000 g в течение 10 мин.

8.7.3. Удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

ВНИМАНИЕ! Для ускорения процедуры выделения нуклеиновых кислот рекомендуется перенести подготовленный клинический материал в лунки дополнительного 96-луночного планшета, не входящего в состав набора реагентов. При необходимости к образцам добавить требуемое количество внутреннего контрольного образца – в соответствии с инструкцией к используемому набору для ПЦР/ОТ-ПЦР, перемешать пипетированием.

Интерферирующие вещества.

Влияние потенциально интерферирующих веществ на работу набора реагентов «НК-Экстра-plate» было проверено в отношении потенциально интерферирующих веществ, которые могут встречаться при процедуре забора клинического материала и при процедуре выделения ДНК/РНК из клинического материала.

К ингибиторам ПЦР, которые могут встречаться при процедуре выделения ДНК/РНК из клинического материала, по результатам анализа рисков и проведения НИОКР отнесены следующие вещества: натрий додецилсульфат и мочевины (входящие в состав лизирующего буфера), а также изопропанол (входящий в состав раствора для промывки №1 и раствора для промывки №2), которые могут присутствовать в элюате с ДНК/РНК в результате неполного удаления в ходе проведения процедуры выделения ДНК/РНК.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, которые могут встречаться при процедуре выделения ДНК/РНК из клинического материала, при которых не наблюдалось влияние на амплификацию лабораторного контрольного образца составляют: натрий додецилсульфат – 0,007мкг/мл образца кДНК, мочевины – 20 мМ/мл образца кДНК, изопропанол – 5 мкл/мл образца кДНК.

Потенциально интерферирующие вещества, которые могут встречаться при процедуре забора клинического материала представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Потенциально интерферирующие вещества, которые могут встречаться при процедуре забора клинического материала

Интерферирующие вещества	Максимальная концентрация
Эндогенные интерферирующие вещества и антикоагулянты	
Гепарин (антикоагулянт)	≥ 0,15 ед./мл
Цитрат натрия (антикоагулянт)	>1 мМ
ЭДТК 2К (антикоагулянт)	> 3,4 мкМ
Гемоглобин (гемолит)	≥ 1 мг/мл
Триглицериды (хилез)	>0,5 мМ
Муцин	5%
Биотин	100 мкг/мл
Билирубин	> 342 мкМ
Экзогенные интерферирующие вещества	
Противовоспалительные средства	
Ацетаминофен	200 мкМ
Ацетилсалициловая кислота	3,7 мМ
Ибупрофен	2,5 мМ
Антибиотики	
Эритромицин	81,6 мкМ
Ципрофлоксацин	31 мкМ
Тобрамицин	5 мкг/мл
Назальный спрей и капли	
Неосинефрин (Фенилэфрин)	10%
Африн (Оксиметазолин)	10%
Соляной назальный спрей	10%
Лекарственные препараты для приема внутрь	
«Амбробене» (амброксола гидрохлорид)	0,003 мг/ мл
«Бромгексин» (бромгексин)	0,016 мг/мл

«Калетра» (лопинавир, ритонавир)	0,02 мг/ мл
«Интерферон» (интерферон альфа)	0,2ед /мл
«Терафлю» (парацетамол, фенирамин, фенилэфрин)	0,071 мг/ мл
Лекарственные препараты вагинальные	
«Полижинакс» (неомицин, нистатин, полимиксин В)	34 МЕ/ мл
«Гиналгин» (метронидазол, хлорхинальдол)	0,07 мг/ мл
«Циклопрокс» (Циклопирокс)	0,02 мг/ мл
«Клотримазол» (клотримазол)	0,02 мг / мл
«Флуомизин» (декваиния хлорид)	0,002 мг/ мл
«Эльжина» (орнидазол, неомицин, преднизолон, эконазол)	0,12 мг/ мл
Средства для наружного применения	
Лубрикант	10%
Тальк	10%

По результатам серии ПЦР-реакций с препаратами ДНК/РНК, выделенными из контрольного образца и растворов с добавлением в контрольный образец потенциального интерферирующего веществ в концентрации, которая, как ожидается, будут встречаться при нормальном использовании набора реагентов «НК-Экстра-plate», к ингибиторам ПЦР при процедуре выделения ДНК/РНК из клинического материала отнесены тальк (в концентрации 10%) и лубрикант (в концентрации 10%). На основании результатов исследования, данные вещества, попадающие в клинические образцы, не оказывают влияние на чистоту выделения нуклеиновых кислот, но приводят к ингибированию ПЦР при концентрациях, превышающих допустимые.

Для снижения количества ингибиторов ПЦР необходимо соблюдать правила взятия клинического материала.

Ограничения по использованию анализируемого материала:

- после окончания процедуры выделения РНК следует сразу приступить к проведению последующего анализа;

- анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки (температура, продолжительность, многократное замораживание-оттаивание);

- не допускается использование образцов, загрязненных посторонним биологическим материалом.

Условия возможного хранения выделенной РНК:

- при +2 ...+8 °С не более 4 ч (рекомендуется),

- при -18... -22 °С не более недели,

- при температуре не выше -80 °С не более года.

Условия возможного хранения выделенной ДНК:

- при +4 °С – не более суток,

- при -18 ...-22 °С – не более месяца,

- при - 70 °С – длительно

9. Подготовка компонентов набора для исследования

Установка, монтаж, настройка, калибровка медицинского изделия для ввода в эксплуатацию не требуется.

1) Расслоение или выпадение осадка не влияет на качество растворов. Если образовался осадок или расслоение компонентов одного из флаконов, необходимо прогреть его при 70°С и тщательно перемешать до полного растворения осадка и гомогенизации растворов.

2) Перед началом работы и перед каждой манипуляцией с раствором магнитных частиц его следует полностью ресуспендировать на вортексе или пипетированием, т.к. суспензия магнитных частиц является двухфазной, легко и быстро образует четко разделяемые фазы.

3) Все компоненты набора перед началом работы необходимо тщательно перемешать.

4) Перенести все содержимое пробирки с «Магнитными частицами» (960 мкл) во флакон с «Буфером для связывания». **Данная смесь может храниться в течение 7 суток.**

5) При подготовке ванночек для розлива растворов необходимо исключить прикосновения к их внутренней поверхности.

10. Проведение исследования

К работе с набором допускается только специально обученный персонал с навыками проведения ПЦР-анализов.

Процедура выделения ДНК/РНК набором реагентов «НК-Экстра-plate».

Внимание! Все работы проводятся с открытой крышкой термошейкера (при наличии). При применении многоканальных пипеток не допускается работа с количеством каналов отличным от количества каналов на пипетке. При использовании степпера не допускается применение одного и того же наконечника для разных растворов или применения одного и того же наконечника в нескольких процедурах выделения НК. При переливании растворов в ванночки для реактивов следует избегать брызг и переливов. Использование ванночек для реактивов повторно не допустимо.

1. Подготовить глубокий 96-луночный планшет KingFisher с лунками объемом 2200 мкл (в комплекте набора).

2. С помощью наконечника на 1000 мкл ресуспендировать и перелить всё содержимое пробирки с «Магнитными частицами» во флакон с «Буфером для связывания».

3. В случае использования многоканального дозатора перелить полученную смесь «Магнитных частиц» с «Буфером для связывания» в новую ванночку для реактивов.

4. При помощи многоканального дозатора или степпера перенести 510 мкл смеси «Магнитных частиц» с «Буфером для связывания» в каждую лунку «Глубоколуночного планшета на 96 лунок для KingFisher Flex/Duo Prime».

5. Внести по 100 мкл образца клинического материала в каждую лунку планшета. Каждую лунку следует заполнять с помощью нового наконечника, чтобы избежать кросс-контаминации образцов. В случае, если клинический материал предварительно перенесён в лунки дополнительного 96-луночного планшета (см. п. 8), внесение материала для выделения может производиться с помощью многоканального дозатора в объёме 100 мкл образца + объём внесённого ВКО.

6. Для лизиса инкубировать планшет на термошейкере при 70°С в течение 5 минут с включённым перемешиванием на 800 rpm.

7. Поместить планшет в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке планшета (обычно требуется 1-2 минуты) и удалить супернатант с помощью многоканального дозатора, степпера или аспиратора. Для каждой лунки использовать отдельный наконечник. Направлять носик наконечника в сторону, противоположную от нахождения магнитных частиц во избежание их случайного удаления из лунки.

8. В случае использования многоканального дозатора перелить раствор для промывки № 1 в новую ванночку для реактивов.

9. При помощи многоканального дозатора или степпера внести в лунки планшета по 600 мкл раствора для промывки №1, не касаясь стенок и дна лунок, ресуспендировать магнитные частицы на термошейкере в течении 20 секунд при 800 rpm. При внесении раствора наконечник следует направлять под острым углом на стенку лунки во избежание разбрызгивания раствора.

10. Поместить планшет в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке планшета (обычно требуется 1-2 минуты) и удалить супернатант с помощью многоканального дозатора, степпера или аспиратора. Для каждой лунки использовать отдельный наконечник. Направлять носик наконечника в сторону, противоположную от нахождения магнитных частиц во избежание их случайного удаления из лунки.

11. В случае использования многоканального дозатора перелить раствор для промывки №2 в новую ванночку для реактивов.

12. Внести в лунки, не касаясь стенок и дна, по 700 мкл раствора для промывки №2, плотно закрыть крышки, ресуспендировать магнитные частицы на термошейкере в течении 20 секунд при 800 rpm. При внесении раствора наконечник следует направлять под острым углом на стенку лунки во избежание разбрызгивания раствора.

13. Поместить планшет в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке планшета (обычно требуется 1-2 минуты) и удалить супернатант с помощью дозатора или аспиратора.

14. Повторить пункты 12 и 13, не меняя ванночку для реактивов.

15. Поместить планшет в термошейкер и инкубировать при 70°C в течение 5 минут без перемешивания для просушки магнитных частиц и удаления остаточного спирта.

16. В случае использования многоканального дозатора перелить элюент в новую ванночку для реактивов.

17. Внести в лунки планшета по 100 мкл элюента, не касаясь наконечником стенок лунок планшета. Тщательно ресуспендировать магнитные частицы пипетированием.

18. Инкубировать планшет при 70°C в течение 10 минут в термошейкере при 800 rpm.

19. Поместить планшет в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке планшета (обычно требуется 1-2 минуты).

20. Перенести супернатант, содержащий выделенную ДНК/РНК, в новые пробирки или дополнительный 96-луночный планшет, не входящий в состав набора реагентов. **ВНИМАНИЕ!** Отбор очищенной ДНК/РНК осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Внимание! Если целью процедуры было выделение РНК, рекомендуется сразу использовать полученный препарат для постановки реакции обратной транскрипции или ОТ-ПЦР.

11. Возможные проблемы и их решение

1. Низкий выход ДНК/РНК, причина и возможное решение:

- состояние образца (в образце содержится недостаточное количество ДНК/РНК; образец долго хранился, или неправильно хранился, или несколько раз подвергался процедуре замораживания-оттаивания) – возможные решения: брать больше исходного материала (с пропорциональным увеличением объема буфера для связывания) или проводить элюцию в меньшем количестве элюента; повторить сбор материала;

- неполное высушивание частиц перед добавлением элюента – увеличить время сушки (инкубации при 70°C) после удаления раствора для промывки №2;

▪ неполный лизис — после внесения лизирующего раствора как можно тщательнее суспендировать образец (для лизиса необходимо инкубировать планшет на термошейкере при 70°C в течение 5 минут с включённым перемешиванием на 800 rpm);

2. **Примеси белка** — нужно добиваться максимально тщательного суспендирования магнитных частиц.

3. **Возможная деградация ДНК/РНК**, причина и возможное решение — старый образец, либо образец подвергался замораживанию-оттаиванию — необходимо провести сбор материала повторно. Избегать замораживания образца в процессе транспортировки и хранения.

12. Условия хранения, транспортировки и эксплуатации набора

Хранение. Набор реагентов хранить при температуре от +2 °C до +30 °C. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.

Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Срок годности вскрытых компонентов набора — 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при условии хранения при температуре от +2 °C до +30 °C. Срок хранения смеси «Магнитных частиц» и «Буфера для связывания» — не более 7 суток.

Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит.

Транспортирование. Транспортировать набор реагентов «НК-Экстра-plate» следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Набор реагентов транспортировать при температуре от +2 °C до +30 °C. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия. Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности. Срок годности набора «НК-Экстра-plate» 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и

эксплуатации. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

13. Утилизация

Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации 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».

В соответствии с классификацией медицинских отходов наборы относятся к классу А (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам). Неиспользованные реактивы в соответствии с п. 170 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» собираются в многоразовые емкости или одноразовые пакеты любого цвета (кроме жёлтого и красного).

Оставшиеся после выполнения работ пробирки и материалы утилизируют в соответствии с МУ 287-113 (Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения).

Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожаются сливом в канализацию с предварительным разбавлением реагента водопроводной водой 1:100 и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор.

Потребительская упаковка набора реагентов «НК-Экстра-plate» подлежит механическому разрушению с вывозом остатков как производственного или бытового мусора.

Персонал, осуществляющий уничтожение набора реагентов, должен соблюдать правила безопасности проведения того или иного способа уничтожения.

14. Гарантийные обязательства, контакты

Предприятие-изготовитель гарантирует качество и безопасность набора реагентов «НК-Экстра-plate» в течение срока годности при соблюдении требований транспортирования и хранения продукции, а также при соблюдении правил эксплуатации.

При возникновении претензий по качеству наборов, нежелательных событий, которые имеют признаки неблагоприятного события (инцидента), направлять информацию по адресу:

Общество с ограниченной ответственностью «ТестГен» (ООО «ТестГен»),
432072 г. Ульяновск, 44-й Инженерный проезд, дом 9, офис 13
Тел.: +7 (499) 705-03-75
www.testgen.ru

Служба технической поддержки:

Тел.: +7 927 981 58 81
E-mail: help@testgen.ru

Инструкция по применению соответствует требованиям Приказа Минздрава России от 09.01.2014 №2н, Приказа Минздрава России от 19.01.2017 № 11н, ГОСТ 51088-2013.

Приложение А

ГОСТ ISO 14971-2011	Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.
ГОСТ 15.309-98	Системы разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции. Основные положения
ГОСТ Р 51088-2013	Наборы реагентов для клинической лабораторной диагностики. Общие технические условия.
ГОСТ Р 51352-2013	Наборы реагентов для клинической лабораторной диагностики. Методы испытаний.
ГОСТ Р ЕН 13612-2010	Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики <i>in vitro</i>
ГОСТ Р 56894-2016	Сводный комплект технической документации для демонстрации соответствия общим принципам обеспечения безопасности и основных функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики <i>in vitro</i>
ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.
ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015	Медицинские изделия для диагностики <i>in vitro</i> . Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики <i>in vitro</i> для профессионального применения
ГОСТ Р ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики <i>in vitro</i> . Оценка стабильности реагентов для диагностики <i>in vitro</i> .

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020	Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Ч.1. Основные требования.
ГОСТ ISO 13485-2017	Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования
ГОСТ 2.114-2016	Единая система конструкторской документации. Технические условия.
ГОСТ 2.104-2006	Единая система конструкторской документации (ЕСКД). Основные надписи
ГОСТ Р 1.3-2018	Стандартизация в Российской Федерации. Технические условия на продукцию. Общие требования к содержанию, оформлению, обозначению и обновлению.

П р и м е ч а н и е – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документом, целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменен или изменен, то при применении настоящего документа следует пользоваться замененным (измененным) документом.

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью

20 (двадцать) листов

Должность: ген. директор
Тороповский А.Н.

