



Интифика - наборы для молекулярных исследований

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «Компания Алкор Био»

Полынцев Д. Г.

«12» 11 2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Медицинского изделия
Набор реагентов для выделения ДНК и РНК
методом преципитации «Преп-НК-Био»

кат. № 400-25

1. НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1. Набор реагентов для выделения ДНК и РНК методом преципитации «Преп-НК-Био» (далее по тексту – набор) предназначен для выделения ДНК и РНК методом преципитации из клинических образцов мочи, мазков носоглотки и/или ротоглотки, мазков/соскобов со слизистых оболочек урогенитального тракта (уретры, цервикального канала и влагалища), промывных вод бронхов, полученных при фибробронхоскопии (бронхоальвеолярный лаваж), слюны, ликвора, плазмы крови и амниотической жидкости для последующего исследования методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) или ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

1.2. Функциональное назначение набора «Преп-НК-Био» - вспомогательное средство в диагностике.

Показания к применению. Набор реагентов «Преп-НК-Био» применяется для подготовки клинических образцов к ПЦР-исследованию, которое может быть использовано в клинической лабораторной диагностике специфической патологии. Экстракцию ДНК и РНК из клинических образцов проводят методом преципитации.

1.3. Область применения – клиническая лабораторная диагностика.

1.4. Набор «Преп-НК-Био» предназначен только для диагностики *in vitro*, для профессионального применения персоналом, имеющим квалификацию для выполнения диагностических исследований *in vitro* в результате специального образования и обучения. Исследования могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим или средним медицинским, биологическим или иным образованием (врач КДЛ, врач-бактериолог, биолог, медицинский лабораторный техник, медицинский технолог). Персонал, проводящий исследования с использованием данного МИ, должен владеть навыками проведения молекулярно-биологических исследований и работы на соответствующем оборудовании.

1.5. Набор «Преп-НК-Био» предназначен для диагностики *in vitro* сотрудниками клинко-диагностических лабораторий.

1.6. Набор «Преп-НК-Био» предназначен для обследования всех групп населения без градации по демографическому или популяционному признаку.

1.7. Набор «Преп-НК-Био» предназначен для однократного применения.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Инструкция разработана в соответствии с ТУ 21.20.23-532-98539446-2020.

2.1. Принцип действия

Проведение этапа экстракции ДНК и РНК из клинических образцов методом спиртового осаждения.

На первой стадии при термической обработке происходит разрушение мембран клеток и органелл, выход свободных нуклеиновых кислот в раствор.

На этапе преципитации все содержащиеся в образце нуклеиновые кислоты (НК) переходят в осадок, в то время как другие компоненты клинического материала остаются в растворе и удаляются аспирацией.

На следующей стадии осадок необходимо дважды отмыть от остатков реагентов, использованных на предыдущем этапе, и от других примесей.

На заключительной стадии НК растворить и надосадочную жидкость, содержащую очищенные ДНК и РНК, использовать для ПЦР-исследования.

2.2. Состав и комплектация

В состав набора входят следующие компоненты (Таблица 1):

Таблица 1

Кат. №	Состав	Количество/объем
400-25	Лизирующий буфер	1 флакон (30 мл)
	Осадитель НК	1 флакон (40 мл)
	Раствор для отмычки	2 флакона (по 50 мл)
	Буфер для растворения НК	1 флакон (10 мл)
	Отрицательный контрольный образец	1 пробирка (1,5 мл)

Набор рассчитан на выделение ДНК и РНК из 100 образцов, включая контрольные реакции¹.

2.3. Интерферирующие вещества и ограничения, связанные с пробой

Наличие интерферирующих веществ в образцах биологического материала (слизь, кровь, элементы тканевого распада и воспаления, местные лекарственные препараты) может быть причиной ингибирования ПЦР и получения сомнительных результатов. Для получения достоверной клинической картины необходимо информировать пациентов о правилах подготовки к исследованию и соблюдать правила взятия биологического материала (см. п. 6).

Набор гарантирует получение высокоочищенной ДНК и РНК после экстракции из соответствующего вида биоматериала. Интерференции со стороны обычных эндогенных веществ не обнаружено. Показано отсутствие негативного эффекта на результаты последующего ПЦР анализа для следующих веществ:

Таблица 2

Тип образца	Название интерферирующего вещества	Концентрация
Урогенитальные мазки, моча	цельная кровь	30 %
	семенная жидкость	30 %
	слизь	50 %
	метронидазол	0,05 мг/мл
	бензалкония хлорид	0,20 мг/мл
	лейкоциты	1×10^6 клеток/мл
	эстриол	0,003 мг/мл
	феназопиридин гидрохлорид	0,05 мг/мл
	кислая моча	pH 4,5
	щелочная моча	pH 9,0
	прогестерон	0,10 мг/мл
	доксикалин	0,40 мг/мл
	глюкоза	0,1 мг/мл
Респираторные мазки, БАЛ	цельная кровь	5 %
	слизь (муцин)	5 %
	раствор ксилометазолина (в максимальной концентрации 0,002 % в образце)	0,10 %
	раствор мирамистина (в максимальной концентрации 0,0002 % в образце)	0,01 %

¹Контрольные реакции (отрицательный контроль К- и положительный контроль К+) должны быть включены в каждое ПЦР-исследование.

Тип образца	Название интерферирующего вещества	Концентрация
Слюна	муцин	10%
Ликвор	изопринозин (инозин пранобекс)	500 мкг/мл
	цельная кровь	5 %
	лейкоциты	1×10^5 клеток/мл
Плазма крови	гемоглобин	3 мг/мл
	белок	100 мг/мл
	билирубин	0,1 мг/мл
Амниотическая жидкость	цефазолин (цефазолина натриевая соль)	50 мкг/мл

Несмотря на отсутствие значимого негативного влияния вышеперечисленных потенциально интерферирующих веществ, рекомендуется информировать пациентов о правилах подготовки к ПЦР-исследованию и соблюдать правила взятия биологического материала (см. п. 6), а в качестве дополнительной меры для контроля качества выделенной ДНК в каждое исследование включать ВКО.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Пригодность НК для ПЦР и ОТ-ПЦР

Набор «Преп-НК-Био» позволяет получить препарат ДНК и РНК хорошего качества, достаточного для последующего проведения исследований методами ПЦР и ОТ-ПЦР. Детекция специфических фрагментов ДНК и РНК, выделенных из контрольных образцов, при проведении ПЦР и ОТ-ПЦР соответствует их паспортным значениям.

3.2. Эффективность выделения ДНК и РНК

Эффективность выделения ДНК и РНК (отношение между количеством выделенной ДНК и РНК к количеству ДНК и РНК, исходно находящемуся в контрольном образце) с применением набора «Преп-НК-Био» составляет 80-100 %.

3.3. Диагностические характеристики

Воспроизводимость

Коэффициент вариации значений C_q (КВ) оценивается с использованием Стандартных образцов нуклеиновых кислот согласно ГОСТ Р 51352-2013.

КВ значений C_q для одного и того же образца после экстракции при использовании набора «Преп-НК-Био» не превышает 8 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – 2а (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ №4н от 06.06.2012 г.).

4.2. Допускать к работе с МИ только специально обученный персонал.

4.3. Перед началом работы необходимо ознакомиться с инструкцией и применять МИ строго по назначению.

4.4. При работе с МИ следует использовать специализированную одежду (медицинский халат или комбинезон, шапочку) и средства индивидуальной защиты (маску, защитные очки, одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, разрешенные к применению на территории РФ), т.к. клинические образцы являются потенциально инфицированным материалом, способным длительное время сохранять и передавать возбудителей различных инфекций.

4.5. При работе с МИ следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 и СанПиН 3.3686-21.

4.6. Каждый этап анализа должен проводиться в отдельных рабочих зонах.

4.7. При работе с образцами, содержащими патогены I-II класса опасности, разбор образцов и этап лизиса следует осуществлять в зоне подготовки и обеззараживания материала согласно СанПиН 3.3686-21. Лизирующий буфер в составе МИ гарантирует полное обеззараживание материала.

4.8. Выделение ДНК и РНК необходимо проводить в зоне выделения нуклеиновых кислот, в боксах биологической безопасности II-III класса с включенным ламинарным потоком.

4.9. Постановку ПЦР с использованием МИ следует проводить в ПЦР-боксе. Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда и др., а также рабочие растворы должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

4.10. При работе с ПКО следует соблюдать особую осторожность, так как его разбрызгивание может привести к контаминации и, как следствие, к ложноположительным результатам.

4.11. Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных СанПиН 3.3686-21.

4.12. Для снижения риска контаминации следует использовать два набора дозаторов:

- для работы с клиническими образцами;
- для внесения реагентов и ВКО.

4.13. Все работы должны выполняться только с использованием одноразовых наконечников с аэрозольным барьером для полуавтоматических пипеток. Для каждого образца (в том числе контролей) использовать отдельный наконечник.

4.14. МИ, в которых обнаружена контаминация реагентов, должны быть утилизированы как биологический материал.

4.15. Все компоненты МИ в используемых концентрациях являются нетоксичными.

4.16. Внимание! В состав МИ входит 0,05 % азид натрия. Следует избегать попадания в глаза и на кожу, опасно при проглатывании. При попадании в глаза – промыть водой, при попадании на кожу – смыть большим количеством воды, при попадании в желудок – прополоскать рот водой. Получить консультацию у врача.

4.17. Внимание! Лизирующий буфер содержит хаотропные агенты в высоких концентрациях. При работе с МИ необходимо использовать одноразовые перчатки.

4.18. Внимание! При работе с легковоспламеняющимися жидкостями (Осадитель НК, Раствор для отмывки) необходимо соблюдать правила пожарной безопасности.

4.19. Убирать и дезинфицировать разлитые МИ, содержащие образцы, следует используя дезинфицирующие средства в соответствии МУ 287-113.

4.20. После использования все одноразовые расходные материалы, которые контактировали с образцами (в том числе: пробирки, перчатки, наконечники и т.д.) должны собираться отдельно и стерилизоваться дезинфицирующим средством с последующей утилизацией в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

4.21. Удалять неиспользованные МИ следует в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

4.22. При удалении отходов следует не допускать открывания пробирок с продуктами ПЦР и их разбрызгивания, так как это может привести к контаминации рабочих поверхностей и оборудования.

4.23. МИ с истекшим сроком годности, нарушением условий транспортирования и хранения, при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору, при нарушении внутренней упаковки компонентов набора применению не подлежит.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

- ПЦР-бокс;
- ламинарный бокс (класс биологической безопасности II тип А) или вытяжной шкаф;
- штативы для пробирок объемом 1,5 и 2 мл;
- термостат твердотельный для пробирок;
- мини-центрифуга с модулем вортекса со скоростью вращения 2,4 тыс. об/мин;
- микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» со скоростью вращения до 13 тыс. об/мин;
- вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надсадочной жидкости;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей: от 20 до 200 мкл и от 100 до 1000 мкл;
- полипропиленовые пробирки объемом 1,5 – 2 мл;
- холодильник;
- морозильная камера;
- дезинфицирующий раствор;
- контейнер для дезинфекции;
- отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.

6. ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

Процедура взятия клинического материала проводится в соответствии с методическим пособием МУ 1.3.2569-09.

Для длительного хранения при температуре -22...-18 °С и ниже образцы желательно аликвотировать порциями по 0,1-0,2 мл в отдельные пластиковые пробирки объемом 1,5 мл. При анализе на наличие ДНК и РНК возбудителей инфекций допустимо только однократное замораживание-оттаивание образца.

Условия взятия, транспортирования, предобработки и хранения образцов клинического материала различного типа

Таблица 3

МОЧА	
Взятие материала	Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15–25 мл в специальный сухой стерильный флакон объемом 50–60 мл
Предобработка проб	Взболтать флакон с мочой. Перенести 1 мл мочи, используя наконечник с аэрозольным барьером, в стерильную одноразовую градуированную микропробирку объемом 1,5 мл. Центрифугировать 5 минут при 13 тыс. об/мин. Используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, полностью удалить супернатант, не захватывая осадок. К осадку добавить транспортную среду ² до конечного объема 0,2 мл, тщательно перемешивать содержимое на вортексе
Условия хранения материала и предварительно обработанных проб	• при температуре +2...+8 °С – в течение 1 суток; • при температуре -22...-18 °С – в течение 1 недели; • при температуре -72...-68 °С – длительно
МАЗКИ ИЗ НОСОВОЙ ПОЛОСТИ	
Взятие материала	Мазки 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 с защелкивающейся крышкой, содержащую соответствующую транспортную среду ³ 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
Условия хранения материала	• при температуре +18...+25 °С – в течение 6 ч; • при температуре +2...+8 °С – в течение 3 суток; • при температуре -22...-18 °С – в течение 1 месяца; • при температуре -72...-68 °С – длительно. Допускается только однократное замораживание /оттаивание материала
МАЗКИ ИЗ РОТОГЛОТКИ	
Взятие материала	Мазки берут сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой 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

² Реагент для транспортирования и хранения клинических образцов «Транспортная среда» (ООО «Компания Алкор Био») или другая аналогичного качества.

³ Реагент для транспортирования и хранения клинических образцов «Транспортная среда с муколитиком» (ООО «Компания Алкор Био»), «Транспортная среда для биопроб СТОР-Ф» (РЗН 2020/9640 от 14.02.2020), Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ФСР 2009/05011 от 09.04.2019); Набор реагентов для транспортировки и хранения клинического материала (Транспортный раствор)» (РЗН 2017/6004 от 24.07.2017) или другая аналогичного качества.

	одноразовую пробирку со специальной транспортной средой ⁴ 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
Условия хранения материала	• при температуре +18...+25 °С – в течение 6 ч; • при температуре +2...+8 °С – в течение 3 суток; • при температуре -22...-18 °С – в течение 1 месяца; • при температуре -72...-68 °С – длительно. Допускается лишь однократное замораживание /оттаивание материала
МАЗКИ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА	
Взятие материала	Исследуемый материал забирать одноразовыми стерильными зондами, погрузить рабочую часть зонда в пробирку с транспортной средой⁵, отломив ее в области насечки (если имеется) или на расстоянии 1-1,5 см от края, оставить в пробирке. <u>Особенности взятия материала из уретры</u> Перед взятием материала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5-2 часов. Непосредственно перед взятием материала наружное отверстие уретры необходимо обработать тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. У женщин перед введением зонда в уретру проводится ее массаж о лобковое сочленение. У мужчин производят массаж уретры, при наличии свободно стекающих из уретры выделений удаляют их сухим тампоном. Зонд вводится в уретру у женщин на глубину 1,0-1,5 см, у мужчин – на 2-4 см и затем делается несколько вращательных движений. У детей материал для исследования берут только с наружного отверстия уретры. <u>Особенности взятия материала из цервикального канала</u> Перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором. Зонд вводится в цервикальный канал на глубину 0,5 – 1,5 см. При наличии эрозий цервикального канала необходимо их обработать стерильным физиологическим раствором, материал следует брать на границе здоровой и измененной ткани. При извлечении зонда необходимо полностью исключить его касание со стенками влагалища. <u>Взятие мазков из влагалища</u> Взятие биоматериала производят с помощью зонд-тампона или универсального зонда. Рабочей частью зонда-тампона вращательными

⁴ Реагент для транспортирования и хранения клинических образцов «Транспортная среда с муколитиком» (ООО «Компания Алкор Био»), «Транспортная среда для биопроб STOP-Ф» (РЗН 2020/9640 от 14.02.2020), Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ФСР 2009/05011 от 09.04.2019); Набор реагентов для транспортировки и хранения клинического материала (Транспортный раствор)» (РЗН 2017/6004 от 24.07.2017) или другая аналогичного качества.

⁵ Транспортная среда с муколитиком (ООО «Компания Алкор Био»), «Транспортная среда для биопроб STOP-Ф» (РЗН 2020/9640 от 14.02.2020), «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФСР 2009/05514 от 13.03.2019); Набор реагентов для транспортировки и хранения клинического материала (Транспортный раствор)» (РЗН 2017/6004 от 24.07.2017) или другая аналогичного качества.

	движениями проводят по поверхностям боковых стенок влагалища, максимально полно собирая отделяемое
Условия хранения материала	• при температуре +18...+25 °С – не более 2 суток; • при температуре +2...+8 °С – не более 4 суток; • при температуре -22...-18 °С и ниже – длительно
БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНЫЙ ЛАВАЖ	
Взятие материала	Сбор биологического материала для исследования следует проводить до назначения антибиотиков. Взятие материала осуществляется в стерильные одноразовые, плотно закручивающиеся пробирки объемом 50 мл. Бронхоальвеолярный лаваж перемешивают переворачиванием пробирки. Затем отбирают 1 мл клинического материала, помещают в пробирку типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл и центрифугируют при 7 тыс. об/мин в течение 10 минут. Удаляют 0,9 мл надосадочной жидкости, осадок клеток перемешивают с 0,1 мл оставшейся жидкости
Условия хранения материала	• при температуре +18...+25 °С – в течение 6 часов; • при температуре +2...+8 °С – не более 2 суток; • при температуре -22...-18 °С и ниже – длительно
ЛИКВОР	
Взятие материала	Спинальную жидкость в количестве не менее 1 мл собрать, используя одноразовые иглы, в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2 мл
Предобработка проб	Предварительная обработка проб не требуется. Для концентрирования содержащих вирусы клеток и бактерий при некоторых инфекционных заболеваниях (ЛЗН, ВКЭ, лептоспироз, боррелиоз, токсоплазмоз) центрифугировать 1 мл спинномозговой жидкости в течение 5 минут при 10 – 11 тыс. об/мин. Используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, удалить надосадочную жидкость, оставив в пробирке около 100 мкл (осадок плюс жидкая фракция). Перед экстракцией ДНК ресуспендировать осадок
Условия хранения материала	• при температуре +2...+8 °С - в течение 1 суток; • при температуре -22...-18 °С - в течение 1 недели; • при температуре -72...-68 °С - длительно
ПЛАЗМА КРОВИ	
Взятие материала	Для получения плазмы забор крови производят натощак или через 3 часа после приема пищи из локтевой вены одноразовой иглой (диаметр 0,8 – 1,1 мм) в специальную вакуумную систему с 6 % ЭДТА или одноразовым шприцем в пластиковые пробирки с цитратом натрия (3,8 %-ный раствор цитрата натрия в соотношении 1:9). Пробирку закрывают крышечкой и аккуратно переворачивают несколько раз вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянтом (в противном случае кровь свернется, и выделение ДНК и РНК станет невозможным)
Условия хранения материала	Образцы цельной крови: • при температуре +18...+25 °С - в течение 2 часов; • при температуре +2...+8 °С - в течение 6 часов с момента взятия материала для количественного определения нуклеиновых кислот; в течение 12 часов – для качественного определения нуклеиновых кислот. <i>Недопустимо замораживание образцов цельной крови!</i>

	Образцы плазмы: • при температуре +2...+8 °С - в течение 5 суток; • при температуре -22...-18 °С - в течение года; - при температуре -72...-68 °С - длительно
АМНИОТИЧЕСКАЯ ЖИДКОСТЬ	
Взятие материала	Взятие амниотической жидкости производится при проведении амниоцентеза с помощью одноразовых игл, в одноразовые пластиковые стерильные сухие пробирки объемом 1,5 мл в количестве не менее 1,0 мл
Предобработка проб	Образцы амниотической жидкости тщательно ресуспендировать на вортексе. Отобрать, используя наконечник с фильтром, 1 мл материала и перенести в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. Центрифугировать 10 минут при 12 тыс. об/мин. После проведения центрифугирования надосадочную жидкость аккуратно отобрать, используя наконечник с фильтром, оставляя над осадком 100 мкл жидкости, затем ресуспендировать материал на вортексе
Условия хранения материала	• при температуре +18...+25 °С - в течение 6 часов; • при температуре +2...+8 °С - в течение 1 суток; • при температуре -22...-18 °С - в течение 1 месяца; • при температуре -72...-68 °С - длительно
СЛЮНА	
Взятие материала	Полость рта тщательно прополоскать (10 – 15 секунд) 8-10 мл дистиллированной воды. Жидкость собрать в стерильную центрифужную пробирку объемом 15 мл. Требуется предварительная обработка проб.
Предобработка проб	Биоматериал центрифугировать в течение 3 минут при 3000 об/мин., супернатант отобрать так, чтобы над осадком остался слой водной фракции 0,5 – 1 мл. В пробы внести 0,2 мл транспортной среды, осадок ресуспендировать на вортексе. Полученную суспензию использовать для выделения НК.
Условия хранения материала и предварительно обработанных проб	• при температуре +18...+25 °С – в течение 6-ти часов; • при температуре +2...+8 °С – в течение 3 суток; • при температуре -18...-22 °С – в течение 1 месяца; • при температуре -68...-72 °С – длительно

7. ПРОЦЕДУРА ЭКСТРАКЦИИ НК

Видеоинструкция и схемы протоколов экстракции по выделению нуклеиновых кислот с использованием набора «Преп-НК-Био» предоставлены на сайте <http://forpcr.ru/info/>.

Внимание! В состав ПЦР-наборов для выявления инфекционных заболеваний производства ООО «Компания Алкор Био» входят положительный контрольный образец (ПКО) и внутренний контрольный образец (ВКО), соответствующие анализируемому объекту.

ПКО не добавляется на этапе выделения ДНК и РНК, а используется в качестве контроля на этапе ПЦР. ВКО добавляется перед началом процедуры выделения во все анализируемые образцы, включая отрицательный контрольный образец (ОКО). ВКО предназначен для контроля экстракции в каждом конкретном образце.

При использовании тест-систем с эндогенным внутренним контролем добавление ВКО на этапе выделения нуклеиновых кислот не требуется.

7.1. Подготовка МИ

Включить термостат, установить температуру +65 °С.

Если во флаконе с Лизирующим буфером наблюдается осадок, то необходимо прогреть и тщательно перемешать раствор до полного растворения осадка.

Взять и промаркировать необходимое для работы количество пробирок объемом 1,5-2 мл (по количеству исследуемых образцов, включая ОКО).

Подготовить и расставить в штативе пробирки с клиническими образцами. Перед проведением процедуры выделения НК клинические образцы перемешать на вортексе, сбросить капли со стенок пробирки и внутренней части крышки коротким центрифугированием.

7.2. Протокол экстракции

7.2.1. В подготовленные пробирки внести по 300 мкл Лизирующего буфера.

Примечание

Лизирующий буфер следует набирать методом обратного пипетирования, чтобы избежать образования пузырей.

Примечание

Если выделенная НК будет использоваться для диагностики инфекций с использованием наборов производства ООО «Компания Алкор Био», необходимо выполнить следующие действия: тщательно перемешать ВКО, сбросить капли коротким центрифугированием; в каждую пробирку внести по 20 мкл раствора ВКО. При использовании тест-систем с эндогенным внутренним контролем добавление ВКО на этапе выделения нуклеиновых кислот не требуется.

7.2.2. В подготовленные пробирки внести по 100 мкл клинического материала, используя для каждого образца отдельный наконечник с аэрозольным барьером. В пробирку, маркированную «ОКО», внести 100 мкл ОКО. Пробирки плотно закрыть. Перемешать на вортексе 3-5 секунд.

7.2.3. Инкубировать при +65 °С в течение 5 минут в твердотельном термостате. В процессе инкубации необходимо тщательно перемешивать содержимое пробирок на вортексе через каждые 3 минуты в течение 5-7 секунд. Если у термостата предусмотрена функция шейкирования, вортексирование не требуется, достаточно выставить скорость вращения 1 тыс. об/мин. По окончании инкубации достать пробирки из термостата, сбросить капли со стенок пробирок коротким центрифугированием при 2,4 тыс. об/мин в течение 3-5 секунд.

Внимание! Пробирки должны быть плотно закрыты во избежание их открывания в процессе прогрева.

7.2.4. Добавить в пробирки по 400 мкл Осадителя НК, перемешать на вортексе 3-5 секунд.

7.2.5. Центрифугировать в течение 5 минут при 13 тыс. об/мин.

7.2.6. С помощью медицинского отсасывателя по внутренней стенке пробирки, противоположной от осадка, осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя одноразовые наконечники без аэрозольного барьера.

Внимание! Если невозможно визуально различить осадок, отбор супернатанта следует проводить не полностью (оставить жидкость на уровне около 3 мм от дна пробирки).

7.2.7. Добавить к осадку 500 мкл Раствора для отмывки, перемешать на вортексе 5-10 секунд.

Внимание! Осадок не должен растворяться.

7.2.8. Центрифугировать в течение 3 минут при 13 тыс. об/мин. Не задевая осадок, максимально отобрать супернатант медицинским отсасывателем. С помощью медицинского отсасывателя по внутренней стенке пробирки, противоположной от осадка, осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя одноразовые наконечники без аэрозольного барьера.

7.2.9. Провести вторую отмывку, повторив пп. 7.2.7 - 7.2.8.

7.2.10. Подсушить осадок в пробирках с открытыми крышками при +65 °С в течение 3-5 минут.

Внимание! Не допускайте пересушивания осадка.

7.2.11. Добавить к осадку 60 мкл Буфера для растворения НК. Пробирки плотно закрыть, перемешать на вортексе и поместить в термостат с температурой +65 °С на 5 минут.

Внимание! Допустимо при необходимости увеличить объем Буфера для растворения НК до 100 мкл.

Внимание! Осадок может раствориться не полностью.

7.2.12. После инкубации центрифугировать пробирки в течение 1 минуты при 13 тыс. об/мин.

7.2.13. Пробы готовы к проведению ПЦР и ОТ-ПЦР анализа, надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК и РНК.

Примечание

Пробы ДНК можно хранить в течение 1 недели при температуре +2...+8 °С или в течение года при температуре -22...-18 °С.

Пробы РНК можно хранить в течение 4 часов при температуре +2...+8 °С, в течение месяца при температуре -22...-18 °С и в течение года при температуре не выше -68 °С.

Внимание! Перед постановкой ПЦР и ОТ-ПЦР пробы ДНК и РНК необходимо перемешать на вортексе в течение 5 секунд, сбросить капли коротким центрифугированием при 2,4 тыс. об/мин в течение 3-5 секунд.

8. УСТРАНЕНИЕ ПРОБЛЕМ

В процессе пробоподготовки могут возникать проблемы, в той или иной степени влияющие на результат анализа.

8.1. Низкий выход ДНК и РНК

- Использован избыточный объем образца. Не следует использовать объемы больше указанных в протоколе.
- Ненадлежащие условия хранения образца. Необходимо хранить образцы в соответствии с инструкцией. Всегда использовать свежие образцы.
- Исходный материал не был полностью лизирован. При визуальном обнаружении осадка необходимо тщательно прогреть Лизирующий буфер перед использованием.
- Осадок НК не растворился. Следует избегать пересушивания осадка.

8.2. ПЦР идет с низкой эффективностью

Очищенная ДНК и РНК содержит остатки раствора для отмывки. Необходимо максимально удалять Раствор для отмывки и проводить высушивание осадка в соответствии с протоколом.

8.3. ДНК и РНК разрушена

- Образец клинического материала был подвергнут неоднократному замораживанию. Необходимо использовать свежий образец для выделения ДНК и РНК либо замороженный однократно.
- Ненадлежащие условия хранения ДНК и РНК. Необходимо хранить образцы в соответствии с инструкцией.

9. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

Транспортирование МИ следует производить всеми видами крытого транспорта при температуре не выше +25 °С.

Допускается краткосрочное (до 5 суток) транспортирование МИ при температуре не выше +35 °С.

МИ, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Срок годности МИ 24 месяца.

МИ должно храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от +2...+25 °С в течение всего срока годности.

После вскрытия МИ компоненты хранить при температуре +2...+25 °С в течение всего срока годности.

Не допускается смешивание или одновременное использование реагентов из разных серий МИ.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции.

МИ с истекшим сроком годности применению не подлежит.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие МИ «Набор реагентов для выделения ДНК и РНК методом преципитации «Преп-НК-Био» требованиям ТУ при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

Гарантийный срок хранения набора — 24 месяца от даты производства.

Набор не подлежит ремонту и обслуживанию.

11. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

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

11.2. При утилизации отходов необходимо руководствоваться требованиями СанПиН 2.1.3684-21, СанПиН 3.3686-21 и МУ 287-113.

11.3. Класс опасности отходов при применении - Б (эпидемиологически опасные). Отходы класса Б собираются в твердую (непрокальваемую) упаковку (контейнеры) желтого цвета или имеющие желтую маркировку с надписью «Отходы. Класс Б». Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию. Выбор метода обеззараживания определяется возможностями организации, осуществляющей исследования с применением данного набора в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

11.4. После истечения срока годности пачки и пакеты утилизируются как отходы класса А (эпидемиологически безопасные).

11.5. Компоненты изделия с наличием предупредительных знаков об опасности на упаковке следует уничтожать с соблюдением соответствующих мер безопасности.

11.6. Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожаются раздавливанием внутренней упаковки с последующим разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как бытового мусора. Компоненты изделий, нерастворимые в воде, уничтожаются путем сжигания.

11.7. Азид натрия, входящий в состав компонентов МИ, может реагировать с медными, свинцовыми трубами и образовывать металлические азиды с повышенной взрывоопасностью. При утилизации следует смывать растворы большим количеством воды во избежание накопления азидов.

11.8. Персонал, осуществляющий уничтожение изделий, должен соблюдать правила безопасности при проведении того или иного способа уничтожения.

12. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам качества Набора реагентов для выделения ДНК и РНК методом преципитации «Преп-НК-Био» следует обращаться в ООО «Компания Алкор Био» по адресу: 192148, г. Санкт-Петербург, Железнодорожный пр., д. 40, лит.А, тел/факс: (812) 677-87-79.

13. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ НА ЭТИКЕТКАХ

	Медицинское изделие для диагностики in vitro		Содержимого достаточно для проведения п тестов
	Номер по каталогу		Обратитесь к инструкции по применению
	Код партии (номер серии)		Использовать до
	Изготовитель		Предел температуры
	Дата изготовления		Не допускать воздействия солнечного света
	Осторожно!		Беречь от влаги
	Опасно! Легковоспламеняющаяся жидкость!		

Инструкция разработана в соответствии с ТУ 21.20.23-532-98539446-2020.

Прошито, пронумеровано, скреплено печатью

15 (поднашивать) лист 80

Генеральный директор

ООО «Компания Алкор Био»

Д.Г. Полинцев

