

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «СКРИНИНГ-М»

 О.А. Груздева

 2021 г.



Инструкция по применению

Набор реагентов для экстракции (выделения) РНК из клинического материала
для последующего проведения реакции обратной транскрипции (ОТ) и
полимеразной цепной реакции (ПЦР)

«РНК-М-СКРИНИНГ»

по ТУ 21.20.23-005-92463794-2021

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

РНК	- рибонуклеиновая кислота
Ct	- пороговый цикл
МУ	- методические указания
НК	- нуклеиновая кислота
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ОТ-ПЦР	- реакция обратной транскрипции и полимеразная цепная реакция
СП	- санитарные правила
ГЭ/мл	- геномный эквивалент на миллилитр биоматериала

1. Назначение набора

Настоящая инструкция по применению (далее – ИП) распространяются на Набор реагентов для экстракции (выделения) РНК из клинического материала для последующего проведения реакции обратной транскрипции (ОТ) и/или полимеразной цепной реакции (ПЦР) «РНК-М-СКРИНИНГ» по ТУ 21.20.23-005-92463794-2021 (далее по тексту – Набор реагентов или Набор).

Назначение. Набор реагентов предназначен для экстракции (выделения) РНК из клинический материала (мазки со слизистых носоглотки и ротоглотки, мокрота) для последующего проведения реакции обратной транскрипции (ОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Область применения. Клиническая лабораторная диагностика.

Потенциальный потребитель. Сотрудники клинико-диагностических лабораторий, специально обученные работе с биохимическими реактивами и лабораторным оборудованием. Только для профессионального использования.

Функциональное назначение – экстракция РНК из биологического материала (мокрота, мазки из носоглотки и ротоглотки). С помощью набора «РНК-М-СКРИНИНГ» можно получить высокоочищенный препарат РНК, свободный от ингибиторов, что обеспечивает высокие аналитические возможности последующего анализа.

Показания к применению. Необходимость получения препарата РНК из биологического материала для последующего анализа методом реакции обратной транскрипции (ОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Противопоказания. Противопоказанием к применению набора реагентов является нарушение целостности упаковки, истекший срок годности, несоблюдение требований инструкции.

Исследуемый биологический материал.

Исследуемым материалом для экстракции НК является биологический материал – мазки и со слизистых носоглотки и ротоглотки, мокрота.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип действия

Материал обрабатывается лизирующим раствором на основе гуанидина. В результате происходит деструкция клеточных мембран, вирусных оболочек и других биополимерных комплексов и высвобождение РНК. Растворенная РНК в присутствии хаотропного агента связывается с частицами сорбента (магнетизированные частицы диоксида кремния), в то время как другие компоненты лизированного клинического материала остаются в растворе. Последующие стадии отмывки сорбента (Растворами для отмывки №1 и №2) позволяют избавиться от примесей, ингибирующих реакцию обратной транскрипции и цепную полимеразную реакцию. При добавлении раствора для элюции РНК к сорбенту происходит переход НК с поверхности сорбента в раствор. В результате получается высокоочищенный препарат РНК, свободный от ингибиторов, что обеспечивает успешное проведение реакции обратной транскрипции (ОТ) и/или ПЦР.

Время экстракции 1 образца НК составляет 30 минут.

2.2. Состав и варианты исполнения набора реагентов

Таблица 1. Состав набора

Реагент	Описание	Вариант исполнения	
		СОРБ-100	СОРБ-200
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная или слегка желтоватая жидкость. Допускается образование осадка в виде кристаллов.	60 мл 1 флакон	120 мл 1 флакон
Преципитирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	10 мл 1 флакон	20 мл 1 флакон
Раствор для отмывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость	30 мл 1 флакон	60 мл 1 флакон
Раствор для отмывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость	100 мл 1 флакон	200 мл 2 флакона по 100 мл
Сорбент магнетизируемый	Суспензия черного или коричневого цвета	2 мл 1 пробирка	4 мл 1 пробирка
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	10 мл 1 флакон	20 мл 1 флакон
Протеиназа	Прозрачная бесцветная жидкость	1 мл 1 пробирка	2 мл 2 пробирки по 1 мл
Паспорт качества	-	1 шт.	1 шт.
Инструкция	-	1 шт.	1 шт.

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

В состав набора реагентов входят следующие компоненты:

1. Лизирующий раствор: гуанидин тиоционат, ЭДТА, Tris HCl, тритон X-100, твин, натрия ацетат, pH – до 7,0.
2. Преципитирующий раствор: изопропиловый спирт.
3. Раствор для отмывки 1: изопропиловый спирт, гуанидин гидрохлорид, ЭДТА, Tris HCl, pH – до 7,0.

4. Раствор для отмывки 2: изопропиловый спирт, ЭДТА, Tris HCl.
5. Сорбент магнетизированный: раствор диоксида кремния магнетизированного
6. Буфер для элюции: ЭДТА, Tris HCl, pH – 7,2-9,2.
7. Протеиназа.

3. Аналитические и диагностические характеристики набора реагентов.

3.1 Эффективность выделения РНК

Набор реагентов позволяет получать пригодный к ОТ-ПЦР препарат РНК. Эффективность выделения РНК подтверждают ОТ-ПЦР на модельных образцах РНК SARS-CoV-2.

Набор реагентов позволяет успешно экстрагировать РНК SARS-CoV-2 с концентрацией $1 \cdot 10^4$ и $1 \cdot 10^3$ ГЭ/мл.

3.2. Чистота выделенной РНК.

Чистота выделения РНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

3.3. Воспроизводимость и повторяемость

Воспроизводимость определяют на идентичных объектах испытаний, разными операторами с использованием разных серий наборов.

Повторяемость определяют на идентичных объектах испытаний, одним и тем же оператором, с использованием одного и того же оборудования и одной серии, в пределах короткого промежутка времени.

Коэффициент вариации (CV) составил не более 5%.

4. Меры предосторожности

При использовании Набора необходимо использовать средства индивидуальной защиты, например, надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как исследуемые образцы следует рассматривать как потенциально инфицированные, возможно содержащие возбудителей любых инфекций.

При работе с Набором реагентов необходимо соблюдать МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности», СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «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 проведении исследования необходимо строго придерживаться общих стандартов по формированию и поддержанию безопасности рабочей среды в медицинских лабораториях при манипуляциях с биологическим материалом человека, химическими реактивами и другими объектами потенциальной опасности для здоровья людей в соответствии с ГОСТ Р 52905-2007.

Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Все сотрудники должны выполнять инструкции и правила техники безопасности, изложенные в технических паспортах к используемым электрическим приборам; персонал, работающий с реактивами, должен быть

обучен обращению с ними, использовать средства персональной защиты, соблюдать правила личной гигиены.

Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Для предотвращения контаминации этапы подготовки к амплификации (ПЦР) и проведения ПЦР следует проводить в отдельных помещениях или изолированных зонах, снабженных комплектами полуавтоматических пипеток, халатами и прочими необходимыми принадлежностями. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

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.

При работе с Набором соблюдать следующие правила: использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реактивами. Тщательно вымыть руки по окончании работы.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов клинического материала.

Поверхности рабочих столов, а также рабочих помещений следует обрабатывать бактерицидными облучателями до и после проведения работ в течение 1 часа.

Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, 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».

Набор реагентов готов к применению согласно инструкции по применению. Применять набор реагентов строго по назначению.

К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).

Не использовать Набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию. Не использовать Набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции. Не использовать Набор реагентов по истечении срока годности.

Избегать контакта содержимого Набора реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

Реагенты, входящие в состав набора, содержат опасные вещества, описанные в таблице 2. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данными реагентами, приведены в таблице 2.

Таблица 2. Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с Набором реагентов.

Реагент	Компоненты	Символы опасности	Заявления об опасности и меры предосторожности
Лизирующий раствор	Гуанидин тиоционат		H302: Вредно при проглатывании. H312: Вредно при попадании на кожу. H314: При попадании на кожу и

			глаза вызывает химические ожоги. H332: Вредно при вдыхании. H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. P260: Не вдыхать газ/пары/пыль/аэрозоли. P264: После работы тщательно вымыть руки. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P302 + P352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды. P305 + P351 + P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если Вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. P501: Упаковку/содержимое удалить в соответствии с СанПин 2.1.3684-21
Отмывка 1	Гуанидин гидрохлорид Изопропанол	  	H226: Воспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси. H302: Вредно при проглатывании. H312: Вредно при попадании на кожу. H314: При попадании на кожу и глаза вызывает химические ожоги. H332: Вредно при вдыхании. H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями P210: Беречь от источников воспламенения/нагрева/искр/открытого огня. Не курить. P260: Не вдыхать газ/пары/пыль/аэрозоли. P264: После работы тщательно вымыть руки. P273: Избегать попадания в

			окружающую среду. R302 + R352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды. R305 + R351 + R338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если Вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. R403 + R233: Хранить в хорошо вентилируемом месте в плотно закрытой/герметичной упаковке. P501: Упаковку/содержимое удалить в соответствии с СанПин 2.1.3684-21
Отмывка 2	Изопропанол	 	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение. H336: Может вызвать сонливость или головокружение. R210: Беречь от источников воспламенения/нагрева/искр/открытого огня. Не курить. R261: Избегать вдыхания газа/пара/пыли/аэрозолей. R264: После работы тщательно вымыть руки. R305 + R351 + R338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если Вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. R403 + R233: Хранить в хорошо вентилируемом месте в плотно закрытой/герметичной упаковке. P501: Упаковку/содержимое удалить в соответствии с СанПин 2.1.3684-21

Преципи- тирующий раствор	Изопропанол	 	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение. H336: Может вызвать сонливость или головокружение. R210: Беречь от источников воспламенения/нагревания/искр/открытого огня. Не курить. R261: Избегать вдыхания газа/пара/пыли/аэрозолей. R264: После работы тщательно вымыть руки. R305 + R351 + R338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если Вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. R403 + R233: Хранить в хорошо вентилируемом месте в плотно закрытой/герметичной упаковке. P501: Упаковку/содержимое удалить в соответствии с СанПин 2.1.3684-21
---------------------------------	-------------	--	--

Не открывать пробирки после амплификации, чтобы избежать контаминации в лаборатории.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека:

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности Набор безопасен. При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен.

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



Набор должен применяться согласно Инструкции по применению, утвержденной в установленном порядке.

5. Материалы и оборудование

- Настольный бокс с бактерицидной лампой или стерильный ламинарный шкаф (например, «БАВп-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия);
- Твердотельный термостат для пробирок типа «Эппендорф» на 1,5 мл с диапазоном температур от 25 до 99 °С (например, ТТ-2-«Термит» «НПО ДНК-Технология» Россия);
- Автоматическая станция выделения нуклеиновых кислот (например, KingFisher Flex 96, Thermo Fisher Scientific», Финляндия или аналогичные)
- Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 14 тыс. об/мин (например, «MiniSpin», «Eppendorf», Германия);
- Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия);
- Пипетки автоматические одноканальные переменного объема 20-200 и 200-1000 мкл; (например, «Ленпипет», Россия).
- Одноразовые полипропиленовые пробирки на 1,5 мл (например, «Ахуген», США);
- Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 200 и 1000 мкл в штативах (например, «Ахуген», США);
- Перчатки медицинские неопудренные латексные;
- Штативы для микропробирок на 1,5-2 мл (например, «Ахуген», США);
- Емкость с дезинфицирующим средством;
- Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 18 °С;
- Халат лабораторный.

6. Взятие, обработка, транспортирование и хранение исследуемого материала, пробоподготовка.

6.1. Взятие, обработка, транспортирование и хранение исследуемого материала.

Материалом для экстракции Набором реагентов служат образцы:

- мокроты;

- мазков носоглотки и ротоглотки.

Взятие, обработка, транспортировка и хранение биоматериала проводится согласно действующей нормативной документации (например, ГОСТ Р 53079.4-2008),

Мазки из ротоглотки 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 одноразовую пробирку со специальной транспортной средой 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.

Мазки из носоглотки 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, 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.

Взятие мокроты осуществляют в количестве не менее 1,0 мл в одноразовые градуированные стерильные флаконы с широким горлом и завинчивающимися крышками объемом не менее 50 мл.

Полученные образцы обычно можно транспортировать и хранить в следующих режимах:

- при температуре от 2 до 8°C – в течение 2 суток;
- при температуре не выше минус 20°C – в течение месяца;

- при температуре не выше минус 68°C – длительно.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

6.2. Пробоподготовка.

Содержимое мазков перед экстракцией НК следует перемешать на вортексе и центрифугировать в течение 5-10 сек при 5 тыс. об/мин на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки пробирки, используют 100 мкл в выделение НК.

Перед выделением нуклеиновых кислот необходимо провести разжижение мокроты, используя раствор «Муколизин». В емкость с мокротой добавляют «Муколизин» в соотношении 5:1 («Муколизин»:мокрота), ориентируясь по градуировке емкости. В процессе разжижения мокроты (20–30 минут) емкость периодически встряхивают. Затем автоматической пипеткой, используя наконечник с фильтром, отбирают 1 мл разжиженной мокроты и центрифугируют при 5000–7000 g (8000–10000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 10 минут. Удаляют 0,8 мл надосадочной жидкости, осадок клеток перемешивают с 0,2 мл оставшейся жидкости и используют в выделение. Допускается выделение РНК из 0,1 мл разжиженной мокроты без стадии центрифугирования.

7. Проведение экстракции

7.1. Контроль качества экстракции.

Контроль качества экстракции РНК осуществляется одновременно с оценкой контролей этапа амплификации.

7.1.1. Отрицательный и положительный контроли экстракции РНК

Каждая экстракция должна включать контрольные образцы (если они предусмотрены согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения ОТ-ПЦР):

- Отрицательный контрольный образец (обычно ОКО или ОК): для подтверждения отсутствия ложноположительных результатов и контроля

контаминации. В качестве ОКО используют реагент, входящий в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР;

- Положительный контрольный образец (ПКО или ПК): для подтверждения успешной экстракции. В качестве ПК используют реагент, входящий в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

Результаты для контролей экстракции должны соответствовать критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

7.1.2. Внутренний контрольный образец

Для контроля наличия ингибиторов может использоваться внутренний контрольный образец (ВКО или ВК). Экзогенный ВКО необходимо добавить в каждый исследуемый и контрольный образец согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР. ВКО проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми пробами.

Результаты исследования ВКО должны соответствовать критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения ОТ-ПЦР.

7.2. Экстракция НК на KingFisher Flex.

Объем исследуемой пробы – 100 мкл.

1) Перед началом работы лизирующий раствор и раствор для отмывки №1 необходимо прогреть при температуре 60°C в течение 10-20 минут.

2) Включить прибор KingFisher Flex. Убедиться, что станция промыта и готова к работе. Скачать скрипт для KingFisher Flex:



Или по ссылке: <http://vetfaktor.ru/upload/flex-faktor.bdz>

Также скрипт может быть выслан на электронную почту.

3) Приготовить четыре планшета с глубокими ячейками, 2 планшета на 200 мкл¹ и одну гребёнку наконечников. Планшеты подписать:

- Первый планшет – L (в этот планшет будет вноситься лизирующий раствор).
- Второй – O1 (в этот планшет будет вноситься раствор для отмывки №1)
- Третий и четвертый планшет – O21 и O22 (в эти планшеты будет вноситься раствор для отмывки №2)
- Первый планшет на 200 мкл - E (в этот планшет будет вноситься буфер для элюции)

4) Во второй планшет на 200 мкл установить гребёнку наконечников.

5) Внести в планшеты с глубокими лунками следующие растворы (число заполняемых лунок равно числу образцов для экстракции, включая ОКО):

- В лунки планшета E внести по 100 мкл буфера для элюции.
- В лунки планшетов «O1» внести по 300 мкл раствора для отмывки 1 на одну точку выделения
- В лунки планшета «O21» внести по 500 мкл раствора для отмывки 2 на одну точку выделения
- В лунки планшета «O22» внести по 500 мкл раствора для отмывки 2 на одну точку выделения.

6) Тщательно ресуспендировать магнетизированный сорбент на вортексе. Пробирки с протеиназой, ВКО из набора для амплификации (если используется) и ОКО осадить кратковременным центрифугированием.

7) В случае использования набора целиком во флакон с лизирующим раствором перелить содержимое флакона с преципитирующим раствором, с магнитным сорбентом, пробирок с протеиназой и ВКО. Закрыть флакон и перемешать содержимое. Внести лунки планшета L по 740 мкл полученной смеси. Во время раскапки рекомендуется периодически встряхивать смесь.

¹ Допускается вместо планшетов на 200 мкл использовать планшеты с глубокими ячейками

Если набор используется не целиком, то подготовить необходимое количество магномикса из расчета на одну точку выделения:

- 20 мкл магносорба
- 10 мкл протеиназы
- 10 мкл² ВКО (из набора для амплификации, если используется)

В лунки планшета L внести по 40 мкл магносмеси (смесь магносорба, протеиназы и ВКО), по 600 мкл лизирующего раствора и по 100 мкл преципитирующего раствора. Далее в лунки этого планшета необходимо внести по 100 мкл исследуемых проб. В пробу для контроля выделения (ВК-) необходимо внести 100 мкл ОКО.

8) Откройте раздвижную дверцу, если прозрачная крышка на месте.

9) Установите планшеты в специально отведенное место в соответствии с протоколом. После установки каждого из планшетов нажимайте кнопку start для подтверждения установки.

10) Обозначения планшетов в протоколе станции (в порядке появления на дисплее станции):

TipPickUp_plate – планшет на 200 мкл с гребёнкой

Elution – планшет E

O21/W21 – планшет «O21»

O22/W22 – планшет «O22»

O1/ W1 – планшет «O1»

Lysis/L – планшет «Л»

11) По окончании процесса снимите все планшеты в соответствии с протоколом. Подтверждайте снятие каждого планшета нажатием кнопки start. Следует иметь в виду, что планшет, в котором находятся ваши образцы, должен сниматься первым.

12) В конечном итоге на дисплее появляется надпись END_OF_RUN (конец цикла). По окончании цикла нажмите кнопку stop.

² Необходимо вносить ВКО соответствии с инструкции к набору реагентов для амплификации. Информация о количестве вносимого ВКО в инструкции к набору реагентов для амплификации является приоритетной!

13) Выключите KingFisher Flex.

Выделенную РНК можно хранить в нескольких часов при температуре от 2°C до 8°C или в течение года при температуре не выше минус 68 °C.

8. Контаминация

НК инфекционных агентов не должна выявляться в отрицательном контроле. Присутствие НК инфекционных в отрицательном контроле указывает на контаминацию другими образцами или ранее амплифицированным продуктом, произошедшую во время приготовления образцов или во время подготовки к проведению исследования.

Для того чтобы избежать контаминации, необходимо произвести полную обработку лаборатории в соответствии с МУ-1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»; затем повторно провести анализ.

9. Контроль качества

Контроль качества Набора при изготовлении осуществляет ОТК предприятия-изготовителя согласно ТУ 21.20.23-005-92463794-2021.

10. Условия хранения и транспортирования

Информация об особенностях транспортирования должна учитываться всеми лицами, участвующими в хранении, перевозке и утилизации (уничтожении) данного изделия.

ВНИМАНИЕ! После транспортирования Набор должен быть разукomплектован!

Протеиназу необходимо хранить от минус 24 до минус 16°C вдали от прямых солнечных лучей в течение всего срока годности набора, остальные реагенты следует хранить на складах при температуре от плюс 2 до плюс 25°C в течение всего срока годности набора.

Хранение изделий ниже 0°C должно осуществляться в морозильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной

регистрацией температуры Срок годности Набора реагентов – 12 месяцев с даты производства. Вскрытые реагенты использовать до истечения срока годности набора.

Транспортирование Набора реагентов производится всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при соблюдении температурного режима. Для всех вариантов исполнения Набора реагентов допустима транспортировка:

- при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение 30 дней;
- при температуре от 2 до 8 °С в течение 5 суток.

Транспортирование изделий при температурах, требующих соблюдения "Холодовой цепи", обеспечивающей сохранность температурного режима, должно осуществляться в термоконтейнерах одноразового пользования, содержащих хладоэлементы, или в термоконтейнерах многократного применения с автоматически поддерживаемой температурой или в авторефрижераторах с использованием термоиндикаторов.

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

Ремонту и обслуживанию не подлежит.

11. Условия эксплуатации

- Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

- Рекомендуемые условия окружающей среды для эксплуатации Набора реагентов:

- температура воздуха 20-28°С
- относительная влажность 45-75%
- атмосферное давление 84,0-106,7 кПа (630-800 мм рт. ст.)

12. Ограничения метода

- Только для диагностики *in vitro*.

- Использование для проведения биологического материала, содержащего избыточное количество примесей (напр. гноя и др.) может приводить к ингибированию последующей реакции амплификации.

- При подготовке проб НК для диагностики инфекционных заболеваний взятие биоматериала, по возможности, должно проводиться в период обострения инфекции. За 10 дней до исследования необходимо прекратить прием химиопрепаратов, антибиотиков, средств гормональной терапии. Контроль эффективности лечения должен проводиться не ранее чем через 3-4 недели после окончания терапии.

- Для прямых методов диагностики инфекционных заболеваний (в том числе ПЦР/ОТ-ПЦР) критически важно соответствие места взятия биоматериала локализации процесса (вируса и пр.). При неправильном выборе места взятия биоматериала крайне высок риск получения ложноотрицательных результатов ПЦР, несмотря на эффективное выделение НК.

- Даже при правильном определении места взятия материала необходимо учитывать, что биоматериал должен содержать максимальную концентрацию искомого анализата (вирусов, микроорганизмов и т.д.) и должен быть лишен нежелательных примесей, ингибирующих ПЦР/ОТ-ПЦР.

Влияние интерферирующих веществ.

Присутствие интерферирующих веществ в образцах в физиологически допустимых концентрациях не влияет на эффективность выделения НК. Незначительная примесь крови (до 10%) в образцах мазков и отделяемого слизистых не оказывает значительного влияния на результат исследования. Пробы, содержащие интерференты в концентрациях, превышающих допустимые, должны быть отбракованы на этапе преаналитики.

Эффективность Набора не снижается при применении следующих медицинских препаратов:

Таблица 3. Потенциально интерферирующие вещества

Интерферент	Конечная концентрация в 1 мл биоматериала
гемоглобин	0,2 мМ
Муцин	2,3 мг
«Мирамистин»	0,001%
«Хлоргексидин» (Дезин 20%)	0,1%
ДНК человека	1×10^7 ГЭ

13. Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности Набор безопасен. При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен.

14. Утилизация

Утилизации подлежат все Наборы, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности.

Медицинские отходы класса В. Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты и биологические отходы следует утилизировать в соответствии со схемой, принятой в организации, в соответствии с СанПин 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Утилизация производится специальными организациями, имеющими лицензию на право утилизации медицинских отходов.

15. Гарантии изготовителя и сведения о рекламациях

ООО «СКРИНИНГ-М» гарантирует стабильность Наборов на протяжении всего срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

По вопросам, касающимся качества Наборов, следует обращаться в ООО «СКРИНИНГ-М» по адресу: 105005, г. Москва, Бауманская ул., д. 7, стр. 1, антресоль 2, пом 1, комн. 17, оф.95, тел./факс (495)956-75-85, e-mail: skрининг-m@yandex.ru, www.скрининг-м.рф.

Место производства: 108841, Россия, г. Москва, г. Троицк, ул. Промышленная, д.2.

16. Используемые символы

	Изготовитель		Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов
	Код партии/Серия		Использовать до
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Версия инструкции по применению		Дата изготовления
	Температурный диапазон		

17. Перечень применяемых производителем медицинского изделия национальных стандартов

Приказ МЗ РФ №4н от 06.06.2012, ГОСТ Р 51088-2013, ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015, ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015, ГОСТ Р ИСО 23640-2015, ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020, ГОСТ Р ЕН 13612-2010, ГОСТ ISO 17511-2011, ГОСТ Р 53079.4-2008, СанПиН 2.1.7.1322-03, СанПиН 2.1.3684-21

Список литературы

1. МУ 1.3. 2569-09 «Организация работ лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2009. - 42 с.
2. СП 1.3.3118-13 Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)
3. ПЦР в реальном времени. Ребриков Д.В., Трофимов Д.Ю., Саматов Г.А. // М.: Лаборатория знаний, 2019. - 223 с.

VER 02/2021

Пронумеровано, прошито и скреплено печатью
ООО «СКРИНИНГ-М»

На 23 листах (двадцати трех)

Генеральный директор:



_____/Груздева О.А.