

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ООО «НаноДиагностика»

Демкин В.В.



«24» октября 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

**Набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из образцов
биологического материала человека**

«РусГенТест МагСет Цито»

по ТУ 21.20.23-001-87575640-2021, серия 01

1. НАИМЕНОВАНИЕ

Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из образцов биологического материала человека «РусГенТест МагСет Цито» по ТУ 21.20.23-001-87575640-2021, серия 01 (далее по тексту – набор, набор реагентов, набор реагентов «РусГенТест МагСет Цито»).

2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Полное наименование	Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из образцов биологического материала человека «РусГенТест МагСет Цито» по ТУ 21.20.23-001-87575640-2021, серия 01
Сокращенное наименование	Набор реагентов «РусГенТест МагСет Цито»
Каталожный номер	B-001
Количество исследований	Набор реагентов рассчитан на выделение НК из 100 образцов, включая контроли.
Метод экстракции	Метод осаждения и сорбции на магнитных частицах
Общее время проведения анализа	20 минут
Состав набора реагентов	1. Магнитный сорбент - 1 пробирка (1,5 мл) 2. Раствор-С - 1 флакон (30,0 мл) 3. Раствор для отмывки - 1 флакон (30,0 мл) 4. Раствор для элюции - 1 флакон (15,0 мл) 5. Инструкция – 1 шт.
Готовность реагентов набора к использованию	Реагенты набора требуют дополнительного смешивания
Воспроизводимость результатов исследования	Внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость результатов исследования с использованием набора реагентов «РусГенТест МагСет Цито» подтверждена в ходе проведения испытаний внутри одной серии и на разных сериях набора реагентов и составляет 100%. Коэффициент вариации значений при исследовании одного и того же образца после экстракции НК не превышает 8 %.
Повторяемость результатов исследования	Повторяемость результатов исследования с использованием набора реагентов «РусГенТест МагСет Цито» подтверждена путём сравнения результатов, полученных при исследовании одних и тех же образцов в разные дни, разными операторами, и составляет 100%. Коэффициент вариации значений при исследовании одного и того же образца после экстракции НК не превышает 8 %.
Тип анализируемого образца	Биологический материал человека, полученный при взятии мазков со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки, мокроты, промывных вод бронхов (ПВБ) или бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), фекалий
Объем анализируемого образца	100 мкл
Объем готового препарата НК	100 мкл
Условия транспортирования	Транспортирование наборов реагентов должно осуществляться в соответствии с ГОСТ Р 51088 и правилами перевозки грузов, всеми видами крытого транспорта, в условиях, обеспечивающих сохранность: - при температуре от +2°C до +25 °C на протяжении всего срока годности или при температуре от +25°C до +37 °C до 5 суток; - при относительной влажности не выше 70 %; - в условиях, исключающих действие агрессивных сред, прямых солнечных лучей и влаги. Замораживание не допускается. Наборы реагентов, транспортированные с нарушением указанных условий, применению не подлежат.

Условия хранения	Набор реагентов «РусГенТест МагСет Цито» хранят в упаковке изготовителя при температуре от +2°C до +25°C.
Срок годности набора реагентов	18 месяцев при соблюдении режима хранения и транспортирования
Сведения о производителе	Общество с ограниченной ответственностью «Нанодиагностика», Адрес: Россия, г. Москва, площадь Академика Курчатова, дом 2, стр.1, тел. 8 (499) 196-21-11
Сведения об уполномоченном представителе производителя	Общество с ограниченной ответственностью «ПЦР Диагностика», Адрес: Россия, г. Нижний Новгород, Сергиевская ул, д. 24/43, помещ. 7 ком. 1, тел. 8-800-600-60-46, e-mail: pcrd-info@yandex.ru

3. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «РусГенТест МагСет Цито» предназначен для выделения нуклеиновых кислот коронавируса SARS-CoV-2 из образцов биологического материала человека, полученных при взятии мазков со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки, мокроты, промывных вод бронхов (ПВБ) или бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), фекалий для последующего исследования методом обратной транскрипции (ОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Для профессионального применения в диагностике *in vitro* в качестве вспомогательного средства на преаналитическом этапе исследования; для использования как в ручном, так и в автоматическом режиме.

Набор предназначен для обследования всех групп населения любого возраста без градации по демографическому или популяционному признаку.

Функциональное назначение: Набор реагентов «РусГенТест МагСет Цито» используется как вспомогательное средство в диагностике.

4. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Клиническая лабораторная диагностика. Для диагностики *in vitro*. Набор реагентов может быть использован в клиничко-диагностических лабораториях медицинских учреждений, лечебных и лечебно-профилактических учреждений здравоохранения и других организаций лечебного профиля. Безопасность работы лабораторий должна быть обеспечена в соответствии с требованиями законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

5. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛИ

Набор реагентов предназначен для профессионального использования медицинскими работниками КДЛ со средним и высшим медицинским образованием (врач клиничко-диагностической лаборатории, медицинский техник-лаборант), прошедшими обучение по работе с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности), поскольку коронавирус SARS-CoV-2 относится ко II группе патогенности. Только для профессионального применения.

6. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов «РусГенТест МагСет Цито» может быть использован в клинической лабораторной диагностике для выявления коронавируса SARS-CoV-2 - возбудителя коронавирусной инфекции COVID-19, потенциально вызывающей острый респираторный синдром. Определение коронавируса SARS-CoV-2 показано для лиц, контактировавших с заболевшими COVID-19, а также лиц с клинической симптоматикой ОРВИ с подозрением на инфекцию COVID-19 и лиц без симптомов ОРВИ в очагах инфекции с целью раннего выявления SARS-CoV-2 для предотвращения дальнейшего распространения инфекции.

Набор реагентов «РусГенТест МагСет Цито» предназначен для экстракции нуклеиновых кислот коронавируса SARS-CoV-2 из образцов биологического материала человека для последующего исследования методами амплификации нуклеиновых кислот (МАНК), которое может быть использовано в клинической лабораторной диагностике специфической патологии. Тип исследования (количественный, качественный) зависит от используемого набора реагентов для амплификации нуклеиновых кислот коронавируса SARS-CoV-2 и указан в инструкции пользователя к

используемому набору реагентов для амплификации нуклеиновых кислот коронавируса SARS-COV-2.

Экстракцию нуклеиновых кислот методом сорбции на силиканизированных частицах магнитного сорбента проводят ручным и автоматизированным способами.

Набор реагентов предназначен для однократного применения.

7. СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПАТОЛОГИЯ, СОСТОЯНИЕ ИЛИ ФАКТОР РИСКА

- лица с клинической симптоматикой ОРВИ;
- лица с подозрением на инфекцию COVID-19;
- лица, контактировавших с заболевшими COVID-19;
- лица без симптомов ОРВИ, находившиеся в очагах инфекции с целью раннего выявления SARS-CoV-2 для предотвращения дальнейшего распространения инфекции.

8. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ

Противопоказаний к применению нет.

9. ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ И ПОПУЛЯЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ

Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

10. ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ

Не применимо для данного медицинского изделия (МИ).

11. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод выделения нуклеиновых кислот с использованием набора реагентов «РусГенТест МагСет Цито» основан на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолеовом растворе.

На первом этапе при термической обработке происходит деструкция клеточных мембран, вирусных или бактериальных оболочек и органелл за счет обработки лизирующим раствором (раствором-С), выход свободных нуклеиновых кислот в раствор и их связывание с частицами магнитного сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются после осаждения сорбента магнитной силой или центрифугированием. На втором этапе магнитный сорбент отмывают раствором для отмывки от остатков реагентов, использованных на предыдущем этапе, и от других примесей. На заключительном этапе НК элюируют с поверхности сорбента в раствор. При добавлении к магнитному сорбенту раствора для элюции происходит переход НК в раствор с поверхности сорбента, который в последующем отделяется от раствора НК магнитной силой или центрифугированием. Элюат, содержащий высокоочищенный препарат нуклеиновых кислот, используют для ПЦР-исследования.

Набор реагентов позволяет выделять нуклеиновые кислоты как в ручном режиме (на магнитном штативе или с применением центрифуги), так и в автоматическом режиме с использованием открытых роботизированных станций:

1. Система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала **Auto-Pure 96 ф. ООО «Ханчжоуская компания инструментов Аошэн»** (РУ № РЗН 2022/16430);
2. Процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков **KingFisher Flex ф. «Термо Фишер Сайентифик Ой»** (РУ № ФСЗ 2009/05562);
3. Станция дозирующая автоматическая **Microlab STARlet ф. «Гамильтон Бонадуц АГ»** (РУ № РЗН 2018/6981);
4. Анализатор автоматический модульный **Tecan Freedom EVO ф. «ТЕКАН Швайц АГ»** (РУ № ФСЗ 2008/03047).

12. СОСТАВ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

В состав набора входят следующие реагенты:

Реагент	Количество	Объем	Описание	Состав компонента
Магнитный сорбент	1 пробирка	1,5 мл	Суспензия темно-коричневого цвета, образующая осадок	Суспензия магнетита (ф. Magen Biotechnology Co., Китай, кат. № C14121) - 2,5% в деионизированной воде; азид натрия (ф. Sigma-Aldrich, США, кат. № 71289, CAS № 26628-22-8) - 0,1%,
Раствор-С	1 флакон	30,0 мл	Прозрачная бесцветная жидкость без механических примесей. Допускается выпадение кристаллического осадка	Сорбирующий раствор, содержащий изопропанол (ф. Sigma-Aldrich, США, кат. № I9516, CAS № 445382-14-9) - 40%, гуанидина тиоционат (ф. Sigma-Aldrich, США, кат. № G9277, CAS № 593-84-0) - 30%, хлорид натрия (ф. Sigma-Aldrich, США, кат. № S7653, CAS № 7647-14-5) - 5%, азид натрия (ф. Sigma-Aldrich, США, кат. № 71289, CAS № 26628-22-8) - 0,1% в деионизированной воде
Раствор для отмывки	1 флакон	30,0 мл	Прозрачная бесцветная жидкость без механических примесей	50% раствор ацетона (ф. Sigma-Aldrich, США, кат. № 179124, CAS № 67-64-10) в деионизированной воде
Раствор для элюции	1 флакон	15,0 мл	Прозрачная бесцветная жидкость без механических примесей	Раствор ЭДТА (ф. Sigma-Aldrich, США, кат. № EDS, CAS № 60-00-4) - 0,03% в деионизированной воде, азид натрия (ф. Sigma-Aldrich, США, кат. № 71289, CAS № 26628-22-8) - 0,1%

Набор реагентов рассчитан на выделение НК из 100 образцов, включая отрицательные контроли. В комплект поставки входят: набор реагентов, инструкция по применению, паспорт качества.

13. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И ПОКАЗАТЕЛИ ПРАВИЛЬНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

13.1. Эффективность выделения нуклеиновых кислот

Эффективность выделения нуклеиновых кислот (отношение между концентрацией РНК в образце после выделения к концентрации РНК в образце до выделения) составляет от 80 до 100%.

13.2. Чистота выделения нуклеиновых кислот

Чистота выделения нуклеиновых кислот по показателю соотношения значений A260/A280 составляет не менее 1,7.

13.3. Воспроизводимость результатов исследования

Внутрисерийная и межсерийная воспроизводимость результатов исследования с использованием набора реагентов «РусГенТест МагСет Цито» подтверждена в ходе проведения испытаний внутри одной серии и на разных сериях набора реагентов и составляет 100%. Коэффициент вариации значений при исследовании одного и того же образца после экстракции НК не превышает 8 %.

13.4. Повторяемость результатов исследования

Повторяемость результатов исследования с использованием набора реагентов «РусГенТест МагСет Цито» подтверждена путём сравнения результатов, полученных при исследовании одних и тех же образцов в разные дни, разными операторами, и составляет 100%. Коэффициент вариации значений при исследовании одного и того же образца после экстракции НК не превышает 8 %.

13.5. Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции были протестированы образцы различных видов биологического материала без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ:

Интерферент	Концентрация интерферента	Вид биологического материала	Наличие интерференции
Муцин	9 мг/мл	Мазки со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки, мокрота, ПВБ, БАЛ, фекалии	Отсутствует
Гемоглобин	0,21 г/мл	Мазки со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки, мокрота, ПВБ, БАЛ, фекалии	Отсутствует
Цельная кровь	50 %		
Билирубин	171 мкмоль/л	Фекалии	Отсутствует
Холестерин	13 ммоль/л	Фекалии	Отсутствует
Рифампицин	17,5 мкг/мл	ПВБ, БАЛ, фекалии	Отсутствует
Изониазид	7 мкг/мл		
Пиразинамид	39 мкг/мл		
Офлоксацин	5,2 мкг/мл		
Водный раствор хлоргексидина биглюконата	5 %	Мазки со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки	Отсутствует
Ксилонитазолин, Назонекс, Пиносол, Оксиметазолин	5 %	Мазки со слизистой оболочки носоглотки	Отсутствует

13.6. По результатам проведенных клинических испытаний в РФ подтверждены заявленные характеристики эффективности медицинского изделия путем проведения выделения нуклеиновых кислот из образцов биологического материала человека, полученных при взятии мазков со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки, мокроты, промывных вод бронхов (ПВБ) или бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), фекалий, с последующим исследованием методом обратной транскрипции (ОТ) и полимеразной цепной реакции (ПЦР) РНК SARS-CoV-2.

14. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Потенциальный риск применения набора реагентов – класс 3 (согласно Номенклатурной классификации медицинских изделий, утвержденной Приказом Министерства Здравоохранения Российской Федерации от 06.06.2012 № 4н).
- Использовать только для диагностики *in vitro*.
- Набор реагентов предназначен только для профессионального применения.
- При работе с набором реагентов следует соблюдать требования ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности».
- Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемических правил СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

- При работе с набором реагентов необходимо обеспечить соблюдение персоналом правил биологической безопасности и требований к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами исследуемых проб помещений и оборудования.
- Все образцы, полученные для лабораторного исследования, следует считать потенциально инфицированными, и при работе с ними должны учитываться требования СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
- Не допускается использовать набор реагентов с истекшим сроком годности.
- Не допускается использовать набор реагентов при нарушении условий транспортирования и хранения.
- Не допускается использование реагентов из наборов разных серий.
- Не допускается использовать набор реагентов при нарушении внутренней упаковки реагентов.
- Выделение нуклеиновых кислот из образцов биологического материала человека с использованием набора реагентов следует проводить в боксированном помещении, оборудованном системой приточной и вытяжной вентиляции или боксе микробиологической безопасности II класса. Всё 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.
- Необходимо использовать одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.
- Для манипуляций с набором реагентов, пробами биологического материала и анализируемыми образцами (пробами выделенных НК) использовать одноразовые пробирки и наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером, одноразовые перчатки без талька. Для каждой операции использовать новые наконечники с аэрозольным барьером.
- При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты (блужон и брюки или халат, шапочку, тапочки или сабо, очки защитные, полумаску, одноразовые неопудренные перчатки, нарукавники одноразовые) для предотвращения контакта с организмом человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности контакт с организмом человека исключён.
- Тщательно мыть руки по окончании работы.
- В реагенте «Раствор-С» содержится гуанидина тиоционат, вызывающий ожоги и повреждения глаз, вреден при проглатывании. Не разбрызгивать! Следует избегать контакта реагентов набора с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При попадании на них реагентов набора промыть большим количеством воды. В случае приема внутрь реагентов набора немедленно обратиться за медицинской помощью.
- Изопропиловый спирт, входящий в состав реагента «Раствор-С», и ацетон, входящий в состав реагента «Раствор для отмывки», обладают раздражающим действием. Не проводить работы с данными реагентами в непосредственной близости от открытого огня.
- В состав «Раствор для элюции» входит азид натрия в концентрации 0,1%. При попадании компонентов с ним на кожу: смыть большим количеством воды с мылом. При попадании в глаза: промыть глаза водой. При попадании в желудок: прополоскать рот водой. Получить консультацию у врача.
- В случае приема внутрь реагентов набора немедленно обратиться за медицинской помощью.
- Все компоненты, входящие в состав реагентов набора, в используемых концентрациях являются нетоксичными, вредного влияния на организм оператора не оказывают.
- Набор реагентов не содержит материалов биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным и влияющим на репродуктивную функцию человека действием. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности набор реагентов безопасен.
- Все использованные материалы, инструменты и оборудование, рабочие поверхности дезинфицировать в соответствии с требованиями МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».
- Все поверхности в лаборатории ежедневно подвергать влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств.

- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
- Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

15. НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный бокс (класс биологической безопасности II тип А);
- твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 – 2,0 мл с возможностью термостатирования при +65 °С;
- центрифуга для пробирок 0,2 и 1,5-2 мл с модулем вортекса со скоростью вращения 2400 об/мин;
- микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» со скоростью вращения до 13000 об/мин;
- магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5-2 мл (не обязателен при использовании протокола с центрифугированием или автоматизированной станцией);
- вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости;
- одноразовые полипропиленовые закрывающиеся пробирки объемом 1,5 – 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным объемом отбора жидкостей: от 0,5 до 10 мкл, от 10 до 100 мкл, от 100 до 1000 мкл;
- одноразовые наконечники к дозаторам полуавтоматическим с аэрозольным барьером, свободные от ДНКаз, РНКаз, объемом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- одноразовые наконечники к дозаторам полуавтоматическим без аэрозольного барьера, объемом до 200 мкл;
- деионизованная стерильная вода свободная от ДНКаз, РНКаз;
- штативы для пробирок и наконечников;
- холодильник от +2 °С до +8 °С, с морозильной камерой от минус 24 °С до минус 16 °С;
- отдельный халат и одноразовые перчатки;
- емкость для сброса наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- комплект средств для обработки рабочего места;
- автоматизированная станция (при ее использовании).

16. УКАЗАНИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

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

15.1 Условия применения набора реагентов:

- температура окружающей среды (15 - 25) °С;
- относительная влажность воздуха (не более 70) %.

Набор реагентов не имеет предыдущих модификаций, находящихся в обращении.

Набор реагентов не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

17. АНАЛИЗИРУЕМЫЙ БИОМАТЕРИАЛ

Материалом для исследования являются образцы биологического материала человека, полученные при взятии мазков со слизистой оболочки носоглотки и/или ротоглотки, мокроты, промывных вод бронхов или бронхоальвеолярного лаважа, фекалий.

Взятие, транспортирование, хранение, предварительную обработку и передачу исследуемого материала в другие организации осуществляют согласно методическим документам, регламентирующим выполнение исследований в соответствии с требованиями «Временные методические рекомендации профилактики, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Версия 16 (18.08.2022), МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» и СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней".

Информацию о порядке взятия, условиях транспортирования и хранения исследуемого материала, необходимости и порядке его подготовки к экстракции нуклеиновых кислот смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

18. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ НК

Проверить пробы биологического материала на пригодность.

Непригодными для исследования являются образцы: гемолизированные, липимичные, немаркированные или несущие нечитаемую маркировку, для которых не указаны дата получения материала, хранившиеся и транспортировавшиеся с нарушением требований, установленных для данного типа биологического материала, с нарушением целостности и/или герметичности контейнеров.

В случае непригодности доставленного образца необходимо уведомить врача, назначившего исследование, и рекомендовать повторное взятие материала с соблюдением всех перечисленных правил. Если повторное взятие таких образцов материала невозможно, при оформлении результата ПЦР-исследования необходимо отразить возможность влияния нарушения правил преаналитического этапа на полученный результат.

Пробы клинического материала, хранившиеся в холодильнике/морозильнике, перед анализом прогреть до температуры 20 – 28 °С.

Исследуемые образцы непосредственно перед выделением НК тщательно гомогенизировать на вортексе, капли материала с внутренней части крышки убрать кратковременным центрифугированием при минимальных скоростях.

19. ПРОЦЕДУРА ЭКСТРАКЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Внимание! В состав наборов реагентов для проведения ПЦР обычно входят **положительный контрольный образец (ПКО), отрицательный контрольный образец (ОКО) и внутренний контрольный образец (ВКО)**, соответствующие выявляемому аналиту.

ПКО и ОКО не добавляются при выделении РНК, а используется в качестве контроля на этапе ПЦР. ВКО перед началом процедуры выделения добавляется во все анализируемые образцы, включая ОКО. ВКО предназначен для контроля экстракции в каждом конкретном образце.

При использовании ПЦР-наборов с эндогенным внутренним контролем добавление ВКО на этапе выделения РНК не требуется.

18.1. ВЫДЕЛЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА МАГНИТНОМ ШТАТИВЕ

1. Включить термостат, установить температуру +65 °С.

2. В случае выпадения осадка прогреть **Раствор-С** при температуре 65°С и тщательно перемешать до полного растворения кристаллов.

3. Отобрать и промаркировать необходимое для работы количество пробирок объемом 1,5-2 мл (по количеству исследуемых образцов, включая пробирку для **отрицательного контроля экстракции (ОКЭ)**, в качестве которого могут быть использованы Раствор для элюции или Деионизованная стерильная вода, свободная от ДНКаз, РНКаз).

4. Подготовить и расставить в штативе пробирки с клиническими образцами.

5. В подходящей по объему емкости приготовить смесь, содержащую **Раствор-С**, тщательно ресуспендированный **Магнитный сорбент** и **ВКО** (при его использовании), из расчета **300 мкл Раствора-С, 15 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл ВКО** на проведение одного выделения. Полученную смесь перемешать до получения гомогенного раствора.

6. В каждую подготовленную промаркированную пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по **325 мкл приготовленной смеси** (по 315 мкл, если ВКО не используется).

7. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл биологического материала**, используя для каждого образца отдельный наконечник с аэрозольным барьером.

В пробирку, промаркированную ОКЭ, внести 100 мкл **Раствора** для элюции или **Деионизованную стерильную воду свободную от ДНКаз, РНКаз**. Пробирки плотно закрыть.

8. Тщательно перемешать на вортексе 3-5 секунд.

9. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °С** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (2–4 раза) перемешивании. Пробирки должны быть плотно закрыты во избежание их открывания в процессе прогрева.

10. По окончании инкубации достать пробирки из термостата и кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

11. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30-60 сек**. Через 30-60 сек. аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость с помощью медицинского

отсасывателя с колбой-ловушкой, используя одноразовые наконечники для дозаторов без аэрозольного барьера до 200 мкл. Для каждой пробы использовать отдельный наконечник.

12. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Раствора для отмывки**, пробирки плотно закрыть и перемешать на вортексе до полного ресуспендирования.

13. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

14. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30-60 сек.** Через 30-60 сек. аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость с помощью медицинского отсасывателя с колбой-ловушкой, используя одноразовые наконечники для дозаторов без аэрозольного барьера до 200 мкл. Для каждой пробы использовать отдельный наконечник.

На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Раствора для отмывки могут вызвать ингибирование ПЦР.

15. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Раствора для элюции**, пробирки плотно закрыть и перемешать на вортексе.

16. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

17. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°C** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (2-4 раза) перемешивании.

18. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

19. Перенести пробирки на магнитный штатив на **30-60 сек.** Надосадочная жидкость содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

20. Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые промаркированные пробирки. Допускается однократное замораживание и хранение очищенного препарата НК в течение суток при температуре +2...+8°C или в течение 1 года при температуре не выше минус 16°C.

18.2. ВЫДЕЛЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА ЦЕНТРИФУГЕ

1. Включить термостат, установить температуру +65 °C.

2. В случае выпадения осадка прогреть **Раствор-С** при температуре **65°C** и тщательно перемешать до полного растворения кристаллов.

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

4. Подготовить и расставить в штативе пробирки с клиническими образцами.

5. В подходящей по объему емкости приготовить смесь, содержащую **Раствор-С**, тщательно ресуспендированный **Магнитный сорбент** и **ВКО** (при его использовании), из расчета **300 мкл Раствора-С**, **15 мкл Магнитного сорбента** и **10 мкл ВКО** на проведение одного выделения. Полученную смесь перемешать до получения гомогенного раствора.

6. В каждую подготовленную промаркированную пробирку объемом 1,5 или 2 мл внести по **325 мкл приготовленной смеси** (по 315 мкл, если ВКО не используется).

7. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл биологического материала**, используя для каждого образца отдельный наконечник с аэрозольным барьером.

В пробирку, промаркированную ОКЭ, внести 100 мкл **Раствора для элюции** или **Деионизованную стерильную воду свободную от ДНКаз, РНКаз**. Пробирки плотно закрыть.

8. Тщательно перемешать на вортексе 3-5 секунд.

9. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65 °C** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (2-4 раза) перемешивании. Пробирки должны быть плотно закрыты во избежание их открывания в процессе прогрева.

10. По окончании инкубации достать пробирки из термостата и осадить магнитный сорбент в течение **30 сек.** при **12 000 об/мин.**

11. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость с помощью медицинского отсасывателя с колбой-ловушкой, используя одноразовые наконечники для дозаторов без аэрозольного барьера до 200 мкл. Для каждой пробы использовать отдельный наконечник.

12. Добавить в каждую пробирку по **300 мкл Раствора для отмывки**, пробирки плотно закрыть и перемешать на вортексе до полного ресуспендирования.

13. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек.** при **12 000 об/мин.**

14. Аккуратно не затрагивая магнитный сорбент удалить надосадочную жидкость с помощью медицинского отсасывателя с колбой-ловушкой, используя одноразовые наконечники для дозаторов без аэрозольного барьера до 200 мкл. Для каждой пробы использовать отдельный наконечник.

На данном этапе необходимо как можно тщательнее отобрать надосадочную жидкость, так как в дальнейшем остатки Раствора для отмывки могут вызвать ингибирование ПЦР.

15. Добавить в каждую пробирку по **100 мкл Раствора для элюции**, пробирки плотно закрыть и перемешать на вихре.

16. Кратковременным центрифугированием осадить капли жидкости со стенок пробирок.

17. Инкубировать в течение **5 мин** при температуре **65°C** при постоянном (рекомендуется) или периодическом (2–4 раза) перемешивании.

18. Осадить магнитный сорбент в течение **30 сек.** при **12 000 об/мин.**

Надосадочная жидкость содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

19. Для хранения образцов рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые промаркированные пробирки. Допускается однократное замораживание и хранение очищенного препарата НК в течение суток при температуре +2...+8°C или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °C.

18.3 ВЫДЕЛЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ НА АВТОМАТИЗИРОВАННОЙ СТАНЦИИ

1. В случае выпадения осадка прогреть **Раствор-С** при температуре **65°C** и тщательно перемешать до полного растворения кристаллов.

2. Отобрать и промаркировать необходимое для работы количество планшетов и насадок на магнитные стержни для автоматической станции (подсчёт образцов проводить с учетом отрицательного контроля экстракции - ОКЭ).

3. В подходящей по объему емкости приготовить смесь, содержащую **Раствор-С**, тщательно ресуспендированный **Магнитный сорбент** и **ВКО** (при его использовании), из расчета **300 мкл Раствора-С**, **15 мкл Магнитного сорбента** и **10 мкл ВКО** на проведение одного выделения. Полученную смесь перемешать до получения гомогенного раствора.

4. Внести в лунки 1-го планшета **приготовленную смесь: Раствор-С с Магнитным сорбентом и ВКО** (при его использовании) по **325 мкл** (или **315 мкл**, если не используется **ВКО**).

5. Внести в лунки 2-го планшета **Раствор для отмывки** по **300 мкл**.

6. Внести в лунки 3-го планшета **Раствор для элюции** по **100 мкл**.

7. В каждую лунку планшета с **Раствором-С**, **Магнитным сорбентом** и **ВКО** (при его использовании) добавить по **100 мкл биологического материала**, используя для каждого образца отдельный наконечник с аэрозольным барьером. В лунку для ОКЭ, внести **100 мкл Раствора для элюции** или **Деионизованную стерильную воду свободную от ДНКаз, РНКаз**.

8. Установить все планшеты в прибор.

9. Запрограммировать прибор:

А) Инкубация образцов с **Раствором-С** и **Магнитным сорбентом** течение **5 мин** при температуре **65 °C** при постоянном перемешивании;

Б) Инкубация образцов в **Растворе для отмывки** в течение **2 мин** при без термостатирования при постоянном перемешивании;

В) Инкубация образца в **Растворе для элюции** в течение **5 мин** при температуре **65 °C** при постоянном перемешивании;

Г) Собрать магнитный сорбент и сбросить гребенку для магнитных стержней.

10. Запустить программу экстракции.

11. После окончания работы прибора, планшет с Раствором для элюции извлечь. Раствор для элюции содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки обратной транскрипции и ПЦР.

12. Для хранения образцов рекомендуется перенести препарат нуклеиновых кислот в новые промаркированные пробирки. Допускается однократное замораживание и хранение очищенного препарата НК в течение суток при температуре +2...+8°C или в течение 1 года при температуре не выше минус 16 °C.

20. ОШИБКИ ПРИ РАБОТЕ

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

- Наличие сигнала по каналам детекции в образце ОКЭ свидетельствует о наличии контаминации. При выявлении контаминации необходимо предпринять меры по локализации и ликвидации её источника.
- РНК разрушена: Препарат нуклеиновых кислот был подвергнут неоднократному замораживанию. Избегайте повторения циклов замораживания - оттаивания. Используйте свежий образец для выделения нуклеиновых кислот. Ненадлежащие условия хранения НК. Храните образцы в соответствии с инструкцией.
- Низкий выход НК: Использован избыточный объём образца. Не используйте объёмы больше указанных в протоколе. Магнитный сорбент имеет ограниченную ёмкость. В случае, если полученное количество НК значительно меньше ожидаемого, разбавьте пробу в 2-10 раз для снижения расхода образца; Исходный материал не был полностью лизирован. Прогревайте лизирующий буфер перед использованием до полного растворения осадка.
- ПЦР идёт с низкой эффективностью: Очищенный препарат НК содержит остатки раствора для отмывки. Максимально удаляйте Раствор для отмывки в соответствии с протоколом.

21. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

Транспортирование

Транспортирование наборов реагентов должно осуществляться в соответствии с ГОСТ Р 51088 и правилами перевозки грузов, всеми видами крытого транспорта, в условиях, обеспечивающих сохранность:

- при температуре от +2°C до +25 °C на протяжении всего срока годности или при температуре от +25°C до +37 °C до 5 суток;
- при относительной влажности не выше 70 %;
- в условиях, исключающих действие агрессивных сред, прямых солнечных лучей и влаги.

Замораживание не допускается.

Наборы реагентов, транспортированные с нарушением указанных условий, применению не подлежат.

Хранение

Набор реагентов «РусГенТест МагСет Цито» должен храниться в упаковке изготовителя при температуре от +2°C до +25°C и относительной влажности не выше 70 % в условиях, исключающих действие агрессивных сред, прямых солнечных лучей и влаги. Замораживание не допускается.

После вскрытия набор реагентов должен храниться в указанных условиях хранения, пробирки с реагентами должны быть плотно закрыты.

22. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора реагентов «РусГенТест МагСет Цито» составляет 18 месяцев с даты изготовления.

Срок годности и условия хранения вскрытых реагентов соответствуют сроку годности и условиям хранения, указанным на этикетках для невскрытых реагентов.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

23. БЕЗОПАСНАЯ 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 и МУ 1.3.2569-09.

Уничтожение наборов реагентов осуществляется организациями, имеющими соответствующую лицензию, на специально оборудованных площадках, полигонах и в помещениях в соответствии с требованиями, предусмотренными существующими Федеральными законами, и с соблюдением обязательных требований по охране окружающей среды.

Отходы, образующиеся в процессе использования набора реагентов, в том числе контаминированные биологическими образцами реагенты, относятся к классу Б (эпидемиологически опасные отходы) и подлежат обязательному обеззараживанию. Выбор метода обеззараживания определяется

возможностями организации, осуществляющей исследования с применением данного набора реагентов.

Упаковка наборов реагентов относится к отходам класса А.

Неиспользованные реагенты набора утилизируют разведением водой 1:100 с последующим сливом в канализацию; пустые флаконы утилизируют как бытовой мусор.

В процессе использования и утилизации набора реагентов с истекшим сроком годности токсичные отходы не образуются.

24. ТРЕБОВАНИЯ К ОХРАНЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Необходимо одновременно обеспечивать соблюдение персоналом правил биологической безопасности и требований к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами исследуемых проб помещений, оборудования, окружающей среды в соответствии с требованием санитарно-эпидемиологического законодательства.

Все компоненты набора реагентов нетоксичны для человека в используемых концентрациях и безопасны для окружающей среды.

Набор реагентов не требует специальных мер безопасности при воздействии таких предсказуемых факторов, как внешние электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температура воздуха.

Набор реагентов не требует специальных мер безопасности относительно риска электромагнитных помех, поскольку в состав набора реагентов не входят и в результате применения не появляются какие-либо источники излучения.

Набор реагентов не содержит: лекарственных средств для медицинского применения, материалов животного и (или) человеческого происхождения, материалов, которые являются канцерогенными, мутагенными или токсичными, возможное выделение или вымывание которых приводит к сенсibilизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.

В составе изделия отсутствуют материалы, вступающие в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента и персонала, использующего изделие, при выполнении требований эксплуатационной документации.

25. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие качества набора реагентов «РусГенТест МагСет Цито» требованиям нормативной и технической документации при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

Безопасность и качество набора реагентов гарантируются в течение всего срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

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

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

Производство имеет сертифицированную на соответствие требованиям стандарта ГОСТ ISO 13485:2017 (ISO 13485:2016) систему менеджмента качества.

Производитель гарантирует высокий уровень безопасности окружающей среды при правильном использовании и утилизации изделий.

По вопросам, касающимся качества Набора реагентов «РусГенТест МагСет Цито» следует обращаться к уполномоченному представителю производителя: ООО «ПЦР Диагностика», Адрес: Россия, г. Нижний Новгород, Сергиевская ул, д. 24/43, помещ. 7 ком. 1, тел. 8-800-600-60-46, e-mail: pcrd-info@yandex.ru

26. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Символ	Описание символа
--------	------------------

	Одной упаковки достаточно для проведения <n> тестов
	Обратитесь к Инструкции по применению
	Использовать до
	Код партии (серии)
	Номер по каталогу
	Изготовитель
	Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Предел температуры Хранить в указанном температурном диапазоне (от +2°C до +25 °C)
	Беречь от влаги
	Беречь от солнечных лучей
	Осторожно!
	Коррозия. Едкость
	Пламя
	Не использовать при нарушении целостности упаковки

27. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ Р 2.105-2019 Единая система конструкторской документации (ЕСКД). Общие требования к текстовым документам.

ГОСТ ISO 14971-2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.

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

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

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

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований, Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов.

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

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro.

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

ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.

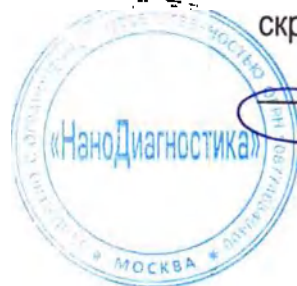
ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.

ГОСТ Р ЕН 13612-2010 Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro.

Пронумеровано, прошито и

скреплено печатью на _____

15 _____ листах



Венкин В. В.