

"УТВЕРЖДАЮ"

Генеральный директор ООО "ТестГен"

Гороповский А.Н.

"28" июня 2021 г.

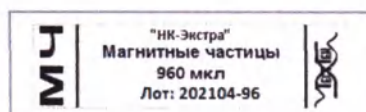


Макет этикеток упаковки изделия медицинского назначения
Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-Экстра»
по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019

Макет этикеток первичной упаковки компонентов набора реагентов

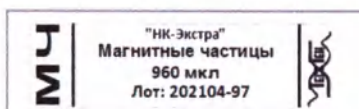
Набор реагентов «НК-Экстра», Форма комплектации 1: Комплект реагентов «НК-Экстра-М» для ручного выделения и выделения с использованием автоматизированных станций пробоподготовки.

 «НК-Экстра» Форма комплектации 1 Раствор для промывки №1 68 мл LOT 202104-96 2022-04 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 1 Буфер для связывания 48 мл LOT 202104-96 2022-04 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 1 Раствор для промывки №2 68 мл LOT 202104-96 2022-04 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 1 Раствор для промывки №2 68 мл LOT 202104-96 2022-04 от 2 до 30°C
 «НК-Экстра» Форма комплектации 1 Элюент 21 мл LOT 202104-96 2022-04 от 2 до 30°C			



Набор реагентов «НК-Экстра», Форма комплектации 2: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-и» (нераскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

 «НК-Экстра» Форма комплектации 2 Раствор для промывки №1 68 мл LOT 202104-97 2022-04 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 2 Буфер для связывания 48 мл LOT 202104-97 2022-04 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 2 Раствор для промывки №2 68 мл LOT 202104-97 2022-04 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 2 Раствор для промывки №2 68 мл LOT 202104-97 2022-04 от 2 до 30°C
 «НК-Экстра» Форма комплектации 2 Элюент 21 мл LOT 202104-97 2022-04 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 2 Глубокий планшет 96 для KingFisher, 5 шт. LOT 202104-97 2022-04 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 2 Планшет (200 мкл) для KingFisher 96, 1 шт. LOT 202104-97 2022-04 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 2 Гребенка наконечников для магнитов DW для KF 96, 1 шт LOT 202104-97 2022-04 от 2 до 30°C



Набор реагентов «НК-Экстра», Форма комплектации 3: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-г» (раскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

 «НК-Экстра» Форма комплектации 3 Планшет 1 – Магнитные частицы 96-луночный планшет, по 100 мкл раствора в каждой лунке LOT 202009-134 2022-01 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 3 Планшет 2 – Буфер для связывания 96-луночный планшет, по 500 мкл раствора в каждой лунке LOT 202009-134 2022-01 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 3 Планшет 3 – Раствор для промывки №1 96-луночный планшет, по 700 мкл раствора в каждой лунке LOT 202009-134 2022-01 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 3 Планшет 4 – Раствор для промывки №2 96-луночный планшет, по 700 мкл раствора в каждой лунке LOT 202009-134 2022-01 от 2 до 30°C
 «НК-Экстра» Форма комплектации 3 Планшет 5 – Раствор для промывки №2 96-луночный планшет, по 700 мкл раствора в каждой лунке LOT 202009-134 2022-01 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 3 Планшет 6 – Элюент 96-луночный планшет, по 200 мкл раствора в каждой лунке LOT 202009-134 2022-01 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 3 Планшет (200 мкл) для KingFisher 96, 1 шт. LOT 202009-134 2022-01 от 2 до 30°C	 «НК-Экстра» Форма комплектации 3 Гребенка наконечников для магнитов DW для KF 96, 1 шт LOT 202009-134 2022-01 от 2 до 30°C

Макет этикетки вторичной (потребительской) упаковки

Набор реагентов «НК-Экстра», Форма комплектации 1: Комплект реагентов «НК-Экстра-М» для ручного выделения и выделения с использованием автоматизированных станций пробоподготовки.

На потребительскую упаковку (картонная коробка по ГОСТ 33781-2016 размером 250x100x99 мм) наклеивают этикетку из бумаги по ГОСТ 7625 размером 80x80 мм.

**Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из
клинического материала «НК-Экстра»
по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019**

**Форма комплектации 1: Комплект реагентов «НК-
Экстра-М» для ручного выделения и выделения с
использованием автоматизированных станций
пробоподготовки**

LOT 202104-96  2021-04  2022-04  96  От 2 до 30°C  IVD	Состав набора: <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Буфер для связывания</td> <td style="padding: 5px;">1 флакон, 48 мл</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Магнитные частицы, МЧ</td> <td style="padding: 5px;">1 пробирка, 960 мкл</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Раствор для промывки №1</td> <td style="padding: 5px;">1 флакон, 68 мл</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Раствор для промывки №2</td> <td style="padding: 5px;">2 флакона по 68 мл</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Элюент</td> <td style="padding: 5px;">1 флакон, 21 мл</td> </tr> </table>	Буфер для связывания	1 флакон, 48 мл	Магнитные частицы, МЧ	1 пробирка, 960 мкл	Раствор для промывки №1	1 флакон, 68 мл	Раствор для промывки №2	2 флакона по 68 мл	Элюент	1 флакон, 21 мл
Буфер для связывания	1 флакон, 48 мл										
Магнитные частицы, МЧ	1 пробирка, 960 мкл										
Раствор для промывки №1	1 флакон, 68 мл										
Раствор для промывки №2	2 флакона по 68 мл										
Элюент	1 флакон, 21 мл										

РУ ____/____

Только для *in vitro* диагностики

Только для профессионального применения

Набор реагентов «НК-Экстра», Форма комплектации 2: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-u» (нераскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

На потребительскую упаковку, картонную коробку по ГОСТ 33781-2016 размером 250x100x99 мм и картонную коробку по ГОСТ 33781-2016 размером 350x135x95 мм, наклеивают этикетки из бумаги по ГОСТ 7625 размером 80x80 мм и 105x74 мм соответственно.

Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-Экстра» по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019

Форма комплектации 2: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-u» (нераскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

Состав набора:

 202104-97  2021-04  2022-04  96  От 2 до 30°C  IVD	Буфер для связывания	1 флакон, 48 мл
	Магнитные частицы, МЧ	1 пробирка, 960 мкл
	Раствор для промывки №1	1 флакон, 68 мл
	Раствор для промывки №2	2 флакона по 68 мл
	Элюент	1 флакон, 21 мл

ру ____/____

Только для *in vitro* диагностики

Только для профессионального применения

Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-Экстра» по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019

Форма комплектации 2: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-u» (нераскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

Состав набора:

 202104-97  2021-04  2022-04  96  От 2 до 30°C  IVD	Глубокий планшет 96 для KingFisher	5 шт.
	Гребенка наконечников для магнитов DW для KF 96	1 шт.
	Планшет (200 мкл) для KingFisher 96	1 шт.

ру ____/____

Только для *in vitro* диагностики

Только для профессионального применения

Набор реагентов «НК-Экстра», Форма комплектации 3: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-r» (раскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

На потребительскую упаковку (картонная коробка по ГОСТ 33781-2016 размером 350x135x95 мм) наклеивают этикетку из бумаги по ГОСТ 7625 размером 105x74 мм.

Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-Экстра» по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019

Форма комплектации 3: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-r» (раскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

Состав набора:

	202009-134	Планшет 1 -Магнитные частицы	96-луночный планшет, по 100 мкл раствора в каждой лунке
	2021-01	Планшет 2 - Буфер для связывания	96-луночный планшет, по 500 мкл раствора в каждой лунке
	2022-01	Планшет 3 - Раствор для промывки №1	96-луночный планшет, по 700 мкл раствора в каждой лунке
	96	Планшеты 4 и 5 -Раствор для промывки №2	два 96-луночных планшета, по 700 мкл раствора в каждой лунке
	От 2 до 30°C	Планшет 6 - Элюент	96-луночный планшет, по 200 мкл раствора в каждой лунке
		Планшет (200 мкл) для KingFisher 96	1 шт.
		Гребенка наконечников для магнитов DW для KF 96	1 шт.

ру _____

Только для *In vitro* диагностики
Только для профессионального применения

Макет вторичной (потребительской) упаковки



Макет этикетки транспортной тары



Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-Экстра» по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019, Форма комплектации 1

Наименование и адрес производителя	ООО «ТестГен», г. Ульяновск, 44-й Инженерный проезд, д. 9, офис 13
Срок годности комплекта реагентов	Годен до: год _____ месяц _____
Дата изготовления набора реагентов	год _____ месяц _____
Условия хранения и транспортировки	Хранение. Набор реагентов хранить при температуре от +2 °С до +30 °С. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия. Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит. Транспортирование. Транспортировать набор реагентов «НК-Экстра» следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Набор реагентов транспортировать при температуре от +2 °С до +30 °С. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия. Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.
Особые инструкции изготовителя в отношении изделия	Инструкция по применению набора реагентов находится внутри транспортной тары
Номер серии (лот)	_____
Предупреждения и меры предосторожности в отношении набора реагентов	 
Число единиц набора реагентов в транспортной таре	
Масса нетто/брутто на транспортной таре	0,05 кг / 0,15 кг
Масса нетто набора реагентов	0,35 кг

Наименование и адрес производителя	ООО «ТестГен», г. Ульяновск, 44-й Инженерный проезд, д. 9, офис 13
Срок годности комплекта реагентов	Годен до: год _____ месяц _____
Дата изготовления набора реагентов	год _____ месяц _____
Условия хранения и транспортировки	Хранение. Набор реагентов хранить при температуре от +2 °С до +30 °С. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия. Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит. Транспортирование. Транспортировать набор реагентов «НК-Экстра» следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Набор реагентов транспортировать при температуре от +2 °С до +30 °С. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия. Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.
Особые инструкции изготовителя в отношении изделия	Инструкция по применению набора реагентов находится внутри транспортной тары
Номер серии (лот)	_____
Предупреждения и меры предосторожности в отношении набора реагентов	 
Число единиц набора реагентов в транспортной таре	
Масса нетто/брутто на транспортной таре	0,05 кг / 0,15 кг
Масса нетто набора реагентов	0,6 кг

Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-Экстра» по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019, Форма комплектации 3

Наименование и адрес производителя	ООО «ТестГен», г. Ульяновск, 44-й Инженерный проезд, д. 9, офис 13
Срок годности комплекта реагентов	Годен до: год _____ месяц _____
Дата изготовления набора реагентов	год _____ месяц _____
Условия хранения и транспортировки	Хранение. Набор реагентов хранить при температуре от +2 °С до +30 °С. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия. Набор реагентов, хранившийся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежит. Транспортирование. Транспортировать набор реагентов «НК-Экстра» следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Набор реагентов транспортировать при температуре от +2 °С до +30 °С. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия. Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.
Особые инструкции изготовителя в отношении изделия	Инструкция по применению набора реагентов находится внутри транспортной тары
Номер серии (лот)	_____
Предупреждения и меры предосторожности в отношении набора реагентов	 
Число единиц набора реагентов в транспортной таре	
Масса нетто/брутто на транспортной таре	0,05 кг / 0,15 кг
Масса нетто набора реагентов	0,5 кг

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью

8 (*восемь*) листов

Должность: ген. директор

Тороповский А.И.





УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «ТестГен»
А. Н. Тороповский
«17» мая 2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического
материала «НК-Экстра»
по ТУ 21.20.23-013-97638376-2019

Содержание

Введение	3
1. Назначение.....	4
2. Принцип метода	5
3. Состав набора реагентов	6
4. Характеристики набора реагентов	10
5. Перечень рисков, связанных с применением набора реагентов «НК-Экстра».....	16
6. Меры предосторожности при работе с набором	16
7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором.....	19
8. Анализируемые пробы	21
9. Подготовка компонентов набора для исследования	33
10. Проведение исследования	38
11. Возможные проблемы и их решение	42
12. Условия хранения, транспортировки и эксплуатации набора	43
13. Утилизация	44
14. Гарантийные обязательства, контакты	46
Приложение А	47

Введение

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

Научная обоснованность.

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

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

Область применения набора реагентов – клиническая лабораторная диагностика.

Показания и противопоказания к применению.

Показания к применению: Набор реагентов «НК-Экстра» рекомендуется использовать для обеспечения преаналитической стадии проведения анализов в клинической лабораторной диагностике. Выделенная тотальная ДНК/РНК человека пригодна для проведения исследований методом обратной транскрипции (РНК), полимеразной цепной реакции (ДНК).

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

1. Назначение

Назначение: Набор реагентов «НК-Экстра» предназначен для выделения ДНК/РНК из клинического материала человека (венозная кровь, плазма венозной крови, мокрота, мазки из носоглотки, мазки из ротоглотки, мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб из цервикального канала, соскоб из уретры, клеточный осадок мочи, секрет предстательной железы) методом, основанном на обратимом связывании нуклеиновых кислот с поверхностью магнитных частиц, для последующего проведения анализов в клинической лабораторной диагностике методом обратной транскрипции (РНК), полимеразной цепной реакции (ДНК).

Функциональное назначение: набор реагентов «НК-Экстра» предназначен для обеспечения преаналитической стадии молекулярно-генетического анализа. Выделенная из клинического материала человека ДНК/РНК не является основой для постановки диагноза, однако может использоваться для последующего проведения анализов в клинической лабораторной диагностике при исследованиях методом обратной транскрипции (РНК), полимеразной цепной реакции (ДНК), в частности при диагностике новой коронавирусной инфекции *SARS-CoV-2* и прочих инфекций, а также в области онкологии, риска развития различных наследственных болезней, экспрессии генов и пр.

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

- Набор реагентов для выявления мРНК гена *PCA3* и определения уровня его экспрессии методом двустадийной ОТ-ПЦР-РВ (Проста-Тест) по ТУ 9398-003-97638376-2015, производства ООО «ТестГен» (регистрационное удостоверение № РЗН 2017/6537 от 04 декабря 2017 года);
- Набор реагентов для качественного выявления РНК коронавируса (*SARS-CoV-2*) методом ОТ-ПЦР в реальном времени «CoV-2-Тест» по ТУ 21.20.23-015-97638376-2020, производства ООО «ТестГен» (регистрационное удостоверение № РЗН 2020/10364 от 15 мая 2020 года).

Потенциальные потребители медицинского изделия

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

2. Принцип метода

Тип анализируемого образца

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

Принцип метода

Принцип используемого в наборе метода основан на обратимом связывании ДНК/РНК с поверхностью магнитных частиц. После лизиса образца содержащиеся в нем нуклеиновые кислоты связываются с магнитными частицами. Затем они должны быть отмыты растворами для промывки №1 и №2, входящими в состав набора. После нескольких циклов отмытки осадок магнитных частиц должен быть высушен, затем нуклеиновые кислоты можно элюировать. Протокол выделения допускается модифицировать для масштабирования в случае, когда требуется получение большего количества конечного материала. Для масштабирования необходимо пропорционально изменить объемы используемых реактивов.

Функциональные возможности набора позволяют использовать его для процесса выделения ДНК/РНК на автоматических станциях.

Ограничения метода

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

Нарушение целостности упаковки при транспортировании.

Использование набора с истекшим сроком годности или условий хранения набора.

Нарушение условий хранения и транспортирования образцов.

Общее время проведения процедуры выделения ДНК/РНК:

- набором реагентов в форме комплектации 1 («НК-Экстра-М») при ручном выделении из 1 образца составляет 40 минут;
- набором реагентов в форме комплектации 1 («НК-Экстра-М») при выделении с использованием автоматизированных станций пробоподготовки из 36 образцов одновременно за цикл составляет 40 минут;
- набором реагентов всех форм комплектации при автоматизированном выделении на процессоре магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex из 96 образцов одновременно за цикл составляет 40 минут.

3. Состав набора реагентов

Набор реагентов выпускается в трех формах комплектации:

- 1) Форма комплектации 1: Комплект реагентов «НК-Экстра-М» для ручного выделения и выделения с использованием автоматизированных станций пробоподготовки.
- 2) Форма комплектации 2: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-и» (нераскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex.
- 3) Форма комплектации 3: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-г» (раскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex.

Количество анализируемых проб

Набор реагентов в форме комплектации 1 («НК-Экстра-М») предназначен для многократного применения, количество реагентов рассчитано на выделение ДНК/РНК из 96 анализируемых образцов.

Набор реагентов в форме комплектации 2 («НК-Экстра-KF-и») предназначен для многократного применения и рассчитан на выделение ДНК/РНК из анализируемых образцов от 1 до 96 на процессоре магнитных частиц KingFisher Flex одновременно за цикл.

Набор реагентов в форме комплектации 3 («НК-Экстра-KF-г») предназначен для однократного применения и рассчитан на выделение ДНК/РНК из 96 анализируемых образцов на процессоре магнитных частиц KingFisher Flex одновременно за цикл.

Состав набора

Таблица 1 – Состав набора реагентов «НК-Экстра», Форма комплектации 1: Комплект реагентов «НК-Экстра-М» для ручного выделения и выделения с использованием автоматизированных станций пробоподготовки

№ п/п	Название реагента	Описание	Количество
1	Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (48 мл)
2	Магнитные частицы, МЧ	Коричневая суспензия	1 пробирка (960 мкл)
3	Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (68 мл)
4	Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость	2 флакона (по 68 мл)
5	Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (21 мл)

Таблица 2 – Состав набора реагентов «НК-Экстра», Форма комплектации 2: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-ц» (нераскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

№ п/п	Название реагента	Описание	Количество
1	Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (48 мл)
2	Магнитные частицы, МЧ	Коричневая суспензия	1 пробирка (960 мкл)
3	Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (68 мл)
4	Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость	2 флакона (по 68 мл)
5	Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон (21 мл)
6	Глубокий планшет 96 для KingFisher	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный глубокий планшет объемом 2200 мкл	5 шт.
7	Планшет (200 мкл) для KingFisher 96	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный низкий планшет объемом 200 мкл	1 шт.
8	Гребенка наконечников для магнитов DW для KF 96	Бесцветная полипропиленовая гребенка наконечников для магнитов DW	1 шт.

Таблица 3 – Состав набора реагентов «НК-Экстра», Форма комплектации 3: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-г» (раскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

№ п/п	Название компонента	Описание	Количество
1	Планшет 1 – Магнитные частицы	Коричневая суспензия	96-луночный планшет, по 100 мкл раствора в каждой лунке
2	Планшет 2 – Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость	96-луночный планшет, по 500 мкл раствора в каждой лунке
3	Планшет 3 – Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость	96-луночный планшет, по 700 мкл раствора в каждой лунке
4	Планшеты 4 и 5 – Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость	два 96-луночных планшета, по 700 мкл раствора в каждой лунке
5	Планшет 6 – Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость	96-луночный планшет, по 200 мкл раствора в каждой лунке
6	Планшет (200 мкл) для KingFisher 96	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный низкий планшет объемом 200 мкл	1 шт.
7	Гребенка наконечников для магнитов DW для KF 96	Бесцветная полипропиленовая гребенка наконечников для магнитов DW	1 шт.

В наборе для выделения не используются калибраторы и контрольные материалы.

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

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

4. Характеристики набора реагентов

4.1 Технические и функциональные характеристики

Таблица 4 – Технические и функциональные характеристики набора реагентов «НК-Экстра»

Наименование показателя	Характеристики и нормы
1. Технические характеристики	
1.1. Внешний вид	
1.1.1. Форма комплектации 1: Комплект реагентов «НК-Экстра-М» для ручного выделения и выделения с использованием автоматизированных станций пробоподготовки	
Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость
Магнитные частицы, МЧ	Коричневая суспензия
Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость
Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость
Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость
1.1.2. Форма комплектации 2: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-и» (нераскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex	
Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость
Магнитные частицы, МЧ	Коричневая суспензия
Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость
Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость
Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость
Глубокий планшет 96 для KingFisher	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный глубокий планшет объемом 2200 мкл
Планшет (200 мкл) для KingFisher 96	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный низкий планшет объемом 200 мкл

Гребенка наконечников для магнитов DW для KF 96	Бесцветная полипропиленовая гребенка наконечников для магнитов DW
1.1.3. Форма комплектации 3: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-r» (раскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex	
Планшет 1 – Магнитные частицы	Коричневая суспензия
Планшет 2 – Буфер для связывания	Прозрачная бесцветная жидкость
Планшет 3 – Раствор для промывки №1	Прозрачная бесцветная жидкость
Планшеты 4 и 5 – Раствор для промывки №2	Прозрачная бесцветная жидкость
Планшет 6 – Элюент	Прозрачная бесцветная жидкость
Планшет (200 мкл) для KingFisher 96	Пустой бесцветный полипропиленовый 96-луночный низкий планшет объемом 200 мкл
Гребенка наконечников для магнитов DW для KF 96	Бесцветная полипропиленовая гребенка наконечников для магнитов DW
1.2. Физико-химические показатели	
Показатели концентрации ионов водорода, pH	
Буфер для связывания	min 6,0 pH, max 8,0 pH
Раствор для промывки №1	min 6,0 pH, max 8,0 pH
Раствор для промывки №2	min 6,0 pH, max 8,0 pH
1.3. Комплектность	В соответствии с п. 1.4 ТУ 21.20.23-013-97638376-2019
1.4. Маркировка	В соответствии с п. 4 ТУ 21.20.23-013-97638376-2019
1.5. Упаковка	В соответствии с п. 5 ТУ 21.20.23-013-97638376-2019
2. Функциональные характеристики	
2.1 Чистота выделения ДНК/РНК, A260/280, не менее	1,7
2.2. Отсутствие контаминации компонентов набора посторонними ДНК/РНК	Отрицательный результат с ОКО в контрольной ПЦР
2.3. Эффективность выделения ДНК/РНК, %, не менее	25

Примечание: при проведении контрольной ПЦР в качестве отрицательного контрольного образца (ОКО) используют

еионизованную стерильную воду, свободную от ДНКаз/РНКаз. В качестве контрольного образца используют смесь плазмиды и РНК, упакованной в капсид бактериофага.

4.2 Характеристики клинической эффективности

По результатам проведенных клинических испытаний подтверждена эффективность медицинского изделия при использовании его в соответствии с назначением путем проведения клинико-лабораторных испытаний методом обратной транскрипции (РНК), полимеразной цепной реакции (ДНК) с образцами выделенного препарата нуклеиновых кислот из 262 образцов клинического материала (венозная кровь, плазма венозной крови, мокрота, мазки из носоглотки, мазки из ротоглотки, мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб из цервикального канала, соскоб из уретры, клеточный осадок мочи, секрет предстательной железы) с использованием зарегистрированных медицинских изделий для диагностики *in vitro*.

Для оценки межсерийной сходимости процедура выделения ДНК/РНК из образцов клинического материала была проведена в двух сериях каждой формы комплектации исследуемого медицинского изделия. Для формы комплектации 1 процедура выделения ДНК/РНК была проведена тремя способами, предусмотренными производителем в эксплуатационной документации: ручным, с использованием автоматизированных станций пробоподготовки и с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex.

Процедура выделения ДНК/РНК с помощью набора реагентов «НК-Экстра», формы комплектации 2 и 3 была проведена с помощью процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex.

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

Результаты изучения диагностических характеристик для всех форм комплектаций исследуемого медицинского изделия по образцам клинического материала приведены в таблице 5. Нижняя граница доверительного интервала определена по методу Клоппера-Пирсона.

Таблица 5 – Результаты клинических испытаний

Тип исследуемого материала	Форма комплектации	Способ выделения РНК	Диагностические характеристики	Количество проб	ДИ с доверительной вероятностью 95%
Венозная кровь	Форма комплектации 1	Ручной способ	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
		KingFisher Flex	100%	28	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплектации 2	KingFisher Flex	100%	28	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплектации 3	KingFisher Flex	100%	28	100% (95% ДИ:96%-100%)
Плазма венозной крови	Форма комплектации 1	Ручной способ	100%	22	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	22	100% (95% ДИ:96%-100%)
		KingFisher Flex	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплектации 2	KingFisher Flex	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплектации 3	KingFisher Flex	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
Мокрота	Форма комплектации 1	Ручной способ	100%	36	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	36	100% (95% ДИ:96%-100%)
		KingFisher Flex	100%	40	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплектации 2	KingFisher Flex	100%	40	100% (95% ДИ:96%-100%)

	Форма комплекта ции 3	KingFisher Flex	100%	40	100% (95% ДИ:96%-100%)
Мазки из носоглотк и	Форма комплекта ции 1	Ручной способ	100%	42	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	42	100% (95% ДИ:96%-100%)
		KingFisher Flex	100%	44	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 2	KingFisher Flex	100%	44	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 3	KingFisher Flex	100%	44	100% (95% ДИ:96%-100%)
Мазки из ротоглотк и	Форма комплекта ции 1	Ручной способ	100%	32	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	32	100% (95% ДИ:96%-100%)
		KingFisher Flex	100%	32	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 2	KingFisher Flex	100%	32	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 3	KingFisher Flex	100%	32	100% (95% ДИ:96%-100%)
Мазки со слизистой оболочки влагалища	Форма комплекта ции 1	Ручной способ	100%	22	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	22	100% (95% ДИ:96%-100%)
		KingFisher Flex	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 2	KingFisher Flex	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 3	KingFisher Flex	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
Соскоб из цервикаль ного канала	Форма комплекта ции 1	Ручной способ	100%	18	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	18	100% (95% ДИ:96%-100%)

		KingFisher Flex	100%	20	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 2	KingFisher Flex	100%	20	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 3	KingFisher Flex	100%	20	100% (95% ДИ:96%-100%)
Соскоб из уретры	Форма комплекта ции 1	Ручной способ	100%	20	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	20	100% (95% ДИ:96%-100%)
		KingFisher Flex	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 2	KingFisher Flex	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 3	KingFisher Flex	100%	24	100% (95% ДИ:96%-100%)
Клеточны й осадок мочи	Форма комплекта ции 1	Ручной способ	100%	18	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	18	100% (95% ДИ:96%-100%)
		KingFisher Flex	100%	20	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 2	KingFisher Flex	100%	20	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 3	KingFisher Flex	100%	20	100% (95% ДИ:96%-100%)
Секрет предстате льной железы	Форма комплекта ции 1	Ручной способ	100%	16	100% (95% ДИ:96%-100%)
		Tecan серии Freedom EVO®	100%	16	100% (95% ДИ:96%-100%)
		KingFisher Flex	100%	18	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 2	KingFisher Flex	100%	18	100% (95% ДИ:96%-100%)
	Форма комплекта ции 3	KingFisher Flex	100%	18	100% (95% ДИ:96%-100%)

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

В пограничную зону риска вошли опасности:

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

В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Совокупный остаточный риск применения медицинского изделия «Набор реагентов для выделения ДНК/РНК из клинического материала «НК-Экстра» по ТУ 21.20.23-013-07638376-2019», производства ООО «ТестГен», является допустимым, польза от его применения превышает риск.

6. Меры предосторожности при работе с набором

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

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала, с соблюдением санитарно-эпидемических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», 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

мещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» 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 всегда следует выполнять следующие требования:

- следует рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» или СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» в зависимости от выполняемого анализа;

- убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»;

- лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Выделения, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса;

- неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий»;

- использовать и менять при каждой операции одноразовые конечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов;

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

- применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции;

- допускать к работе с набором только специально обученный персонал;

- не использовать набор по истечении срока годности;

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

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

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

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

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

7. Оборудование и материалы, необходимые при работе с набором

Оборудование:

1. Стерильный ламинарный бокс биологической (микробиологической) безопасности II класса;
2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф», поддерживающий температуру от 25°C до 100°C;
3. Микроцентрифуга-вортекс для пробирок типа «Эппендорф» 1,5/2 мл;
4. Центрифуга для микропробирок, с RCF не ниже 16 000 g;
5. Дозаторы переменного объема, позволяющие собирать объёмы жидкости 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
6. Холодильник от +2°C до +8°C,
7. Морозильная камера от -2 °C до -40 °C,
8. При использовании любой из форм комплектации набора («НК-Экстра-М», «НК-Экстра-KF-и» или «НК-Экстра-KF-»): процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, слеток и белков KingFisher Flex, (Thermo Fisher Scientific, Финляндия),
9. При использовании формы комплектации 1 («НК-Экстра-М») возможно применение автоматизированных станций пробоподготовки (TECAN, Швейцария, Австрия),
10. При использовании формы комплектации 2 («НК-Экстра-KF-и») для внесения реагентов в глубокие планшеты 96 для KingFisher могут быть использованы многоканальные автоматические дозаторы переменного объема (например, «Eppendorf», Германия) или роботизированная станция пробоподготовки Tecan серии Freedom EVO® (TECAN, Швейцария, Австрия),
11. При использовании формы комплектации 2 («НК-Экстра-KF-и») для внесения реагентов в глубокие планшеты объемом 2200 мкл могут быть использованы Ванночки-резервуары на 100 мл (например, Biologix, Китай),

Дополнительно могут быть использованы:

12. Электрический лабораторный аспиратор с колбой-ловушкой.

Материалы и реагенты, не входящие в состав изделия:

1. Одноразовые полипропиленовые закручивающиеся и плотно закрывающиеся микропробирки объемом 1,5 мл, свободные от посторонней ДНК/РНК и ДНКаз/РНКаз,
2. 96-луночные глубокие планшеты объемом 2200 мкл свободные от посторонней ДНК/РНК и ДНКаз/РНКаз,
3. 96-луночный низкий планшет объемом 200 мкл свободные от посторонней ДНК/РНК и ДНКаз/РНКаз,
4. Гребенка наконечников для магнитов DW для KingFisher 96,
5. Одноразовые полипропиленовые закручивающиеся и плотно закрывающиеся пробирки объемом 15 мл, свободные от посторонней ДНК/РНК и ДНКаз/РНКаз,
6. Штативы для пробирок объемом 15 мл и 1,5 мл и наконечников,
7. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» на 1,5-2 мл,
8. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером 100 мкл, 1000 мкл и 5 мл свободные от посторонней ДНК/РНК и ДНКаз/РНКаз,
9. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема 100 мкл и 1000 мкл, свободные от посторонней ДНК/РНК и ДНКаз/РНКаз,
10. Одноразовые или отдельные халаты и одноразовые перчатки,
11. Емкости с дезинфицирующим раствором для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов,

Дополнительно могут быть использованы:

12. Набор реагентов для стабилизации РНК в биопробах СТОР-ЭКС по ТУ 9398-099-46482062-2017 производства ООО «ДНК-Технология ТС» (Регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7775 от 08.11.2018) или аналогичный, предназначенный для сохранения и транспортировки биоматериала с одновременной стабилизацией РНК.
13. Стерильный физиологический раствор (0,9% NaCl).

14. Деионизованная стерильная вода, свободная от Каз/РНКаз.

При выделении из мокроты:

15. 10% раствор трехзамещенного фосфорнокислого
рия,

16. 1М раствор HCl,

17. 5% раствор хлорамина,

18. Муколизин.

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

Измерительное оборудование при эксплуатации набора не
ебуется.

8. Анализируемые пробы

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

**Условия транспортирования и хранения исходного
клинического материала.**

Таблица 6 – Условия хранения и транспортировки
клинического материала

Тип образца	Требования к сбору материала	Условия хранения и транспортирования материала
Венозная кровь	Кровь отбирают в пробирку с добавленной в качестве антикоагулянта CPDA или EDTA-K2.	Транспортирование: При использовании пробирок с CPDA в качестве антикоагулянта – 24 часа при температуре от +2 до +8 °С. При использовании пробирок с EDTA-K2 в качестве антикоагулянта, кровь необходимо доставить в лабораторию в течение 24 часов. ВНИМАНИЕ! Важно исключить замораживание и прогрев пробирки с кровью выше 25 °С.

		Условия хранения: Цельная кровь, собранная в пробирки, содержащие EDTA-K2 (этилендиаминтетрауксусную кислоту) или CPDA в качестве антикоагулянтов, хранится при температуре от +2 до +8°C – не более 24 часов. В случае невозможности доставки материала в лабораторию в течение суток допускается однократное замораживание материала. Допускается хранение замороженного материала при температуре от минус 18 °C до минус 22 °C в течение 6 месяцев.
Плазма венозной крови	Для получения плазмы периферическую венозную кровь отбирают в пробирку с добавленной в качестве антикоагулянта CPDA или EDTA-K2.	При использовании пробирок с CPDA в качестве антикоагулянта с момента взятия крови и получения плазмы, должно пройти не более 48 часов. При использовании пробирок с EDTA-K2 в качестве антикоагулянта с момента взятия крови и до получения плазмы должно пройти не более 2-3 часов. Условия хранения: - при температуре 2-8 °C - в течение 5 суток; - при температуре минус 20 °C – в течение месяца; - при температуре минус 70 °C – длительно. ВНИМАНИЕ! Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.
Мокрота	Взятие материала осуществляют в количестве не менее 1,0 мл в одноразовые градуированные стерильные	При комнатной температуре - в течение 6 часов; - при температуре 2-8 °C - в течение 3 суток;

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

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

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

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

Для увеличения сроков хранения исследуемого материала в целях последующего выделения РНК, рекомендуется использовать набор реагентов для стабилизации РНК в биопробах СТОР-ЭКС по ТУ 9398-099-46482062-2017 производства ООО «ДНК-Технология ТС» (регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7775 от 08.11.2018) или аналогичный, предназначенный для сохранения и транспортировки биоматериала с одновременной стабилизацией РНК. Образцы с реагентом для стабилизации РНК могут храниться в течение 48 часов при температуре +18...+25°С и в течение 7 суток

ри температуре $+2...+8^{\circ}\text{C}$. Следует избегать многократного замораживания-оттаивания образцов в процессе хранения. Реагент для стабилизации не рекомендуется использовать для сохранения ДНК в цельной крови, плазме или сыворотке, поскольку эти жидкости содержат высокую концентрацию белков.

Процедура подготовки клинического материала к выделению нуклеиновых кислот.

8.1. Венозная кровь.

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

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

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

8.2. Плазма венозной крови.

8.2.1. Пробирки с кровью, полученной в п. 8.1, центрифугировать при 2 500 g в течение 15 минут при комнатной температуре ($18-25^{\circ}\text{C}$).

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

8.3. Мокрота.

Способ 1

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

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

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

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

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

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

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

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

Способ 2

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

8.4. Мазки из носоглотки, мазки из ротоглотки.

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

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

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

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

предназначенных для сохранения и транспортировки с одновременной стабилизацией РНК; аккуратно перемешать.

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

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

8.6. Клеточный осадок мочи.

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

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

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

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

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

8.6.6. При необходимости хранения осадков более 3 суток в целях дальнейшего выделения РНК, отдельными стерильными наконечниками добавляют к осадкам (объемом 50-300 мкл) 1,0 мл раствора для стабилизации и сохранения РНК, аккуратно ресуспендируют осадки пипетированием,

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

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

8.7. Секрет предстательной железы.

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

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

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

Интерферирующие вещества.

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

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

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

Потенциально интерферирующие вещества, которые могут встречаться при процедуре забора клинического материала представлены в таблице 7.

Таблица 7 - Потенциально интерферирующие вещества, которые могут встречаться при процедуре забора клинического материала

Интерферирующие вещества	Максимальная концентрация
Эндогенные интерферирующие вещества и антикоагулянты	
Гепарин (антикоагулянт)	$\geq 0,15$ ед/мл
Цитрат натрия (антикоагулянт)	>1 ммоль/л
ЭДТК 2К (антикоагулянт)	$> 3,4$ мкМ
Гемоглобин (гемолиз)	≥ 1 мг/мл
Триглицериды (хилез)	$>0,5$ ммоль/л
Муцин	5%
Биотин	100 мкг/мл
Билирубин	> 342 мкМ
Экзогенные интерферирующие вещества	
Противовоспалительные средства	
Ацетаминофен	200 мкМ
Ацетилсалициловая кислота	3,7 мМ
Ибупрофен	2,5 мМ
Антибиотики	
Эритромицин	81,6 мкМ
Ципрофлоксацин	31 мкМ
Тобрамицин	5 мкг/мл
Назальный спрей и капли	
Неосинефрин (Фенилэфрин)	10%
Африн (Оксиметазолин)	10%
Соляной назальный спрей	10%
Лекарственные препараты для приема внутрь	
«Амбробене» (амброксола гидрохлорид)	0,003 мг/ мл
«Бромгексин» (бромгексин)	0,016 мг/мл
«Калетра» (лопинавир, ритонавир)	0,02 мг/ мл
«Интерферон» (интерферон альфа)	0,2ед /мл
«Терафлю» (парацетамол, фенирамин, фенилэфрин)	0,071 мг/ мл
Лекарственные препараты вагинальные	

«Полижинакс» (неомицин, нистатин, полимиксин В)	34 МЕ/ мл
«Гиналгин» (метронидазол, хлорхинальдол)	0,07 мг/ мл
«Циклопрокс» (Циклопирокс)	0,02 мг/ мл
«Клотримазол» (клотримазол)	0,02 мг / мл
«Флуомизин» (деквалиния хлорид)	0,002 мг/ мл
«Эльжина» (орнидазол, неомицин, преднизолон, эконазол)	0,12 мг/ мл
Средства для наружного применения	
Лубрикант	10%
Тальк	10%

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

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

Ограничения по использованию анализируемого материала:

- после окончания процедуры выделения ДНК/РНК следует сразу приступить к проведению последующего анализа;
- анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки (температура, продолжительность, многократное замораживание-оттаивание);
- не допускается использование образцов, загрязненных посторонним биологическим материалом.

Условия возможного хранения выделенной ДНК:

- при +4 °С – не более суток,
- при -18 ...-22 °С – не более месяца,
- при -80 °С – длительно.

Условия возможного хранения выделенной РНК:

- при +2 ...+8 °С не более 4 ч (рекомендуется),
- при -18... -22 °С не более недели,
- при температуре не выше -80 °С не более года.

9. Подготовка компонентов набора для исследования

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

При использовании Формы комплектации 1 для ручного выделения:

- 1) Расслоение или выпадение осадка не влияет на качество растворов. Если образовался осадок или расслоение компонентов одного из флаконов, необходимо прогреть его при 70 °С и тщательно перемешать до полного растворения осадка и гомогенизации растворов.
- 2) Перед началом работы и перед каждой манипуляцией с раствором магнитных частиц его следует полностью ресуспендировать на вортексе или пипетированием, т.к. суспензия магнитных частиц является двухфазной, легко и быстро образует четко разделяемые фазы.
- 3) Все компоненты набора перед началом работы необходимо тщательно перемешать.
- 4) При большом количестве анализируемых проб допускается перед работой перенести все содержимое пробирки с «Магнитными частицами» (960 мкл) во флакон с «Буфером для связывания». Данная смесь может храниться в течение 7 суток. Следует тщательно перемешивать приготовленную суспензию магнитных частиц в «Буфере для связывания» перед каждым использованием.

При использовании Формы комплектации 1 совместно с роботизированной станцией пробоподготовки Тесап серии Freedom EVO®:

- 1) Расслоение или выпадение осадка не влияет на качество растворов. Если образовался осадок или расслоение компонентов в лунках планшета, необходимо прогреть его при 70°C и перемешать до полного растворения осадка и гомогенизации растворов.
- 2) Все компоненты набора перед использованием необходимо перемешать.
- 3) Перенести все содержимое пробирки с «Магнитными частицами» (960 мкл) во флакон с «Буфером для связывания». Данная смесь может храниться в течение 7 суток. Следует тщательно перемешивать приготовленную суспензию магнитных частиц в «Буфере для связывания» перед каждым использованием.
- 4) Подготовить роботизированную станцию пробоподготовки Тесап серии Freedom EVO® в соответствии с инструкцией по ее применению.
- 5) Перелить подготовленные растворы из флаконов в кюветы и загрузить их на станцию в порядке, описанном в протоколе работы станции.
- 6) Загрузить специальные наконечники, пробирки для выполнения реакций выделения ДНК/РНК и пробирок для выделенной ДНК/РНК на станцию в порядке, описанном в протоколе работы станции.

При использовании Формы комплектации 1 совместно с процессором магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

- 1) Расслоение или выпадение осадка не влияет на качество растворов. Если образовался осадок или расслоение компонентов в лунках планшета, необходимо прогреть его при 70°C и перемешать до полного растворения осадка и гомогенизации растворов.
- 2) Все компоненты набора перед использованием необходимо перемешать.
- 3) Перенести все содержимое пробирки с «Магнитными частицами» (960 мкл) во флакон с «Буфером для связывания».

данная смесь может храниться в течение 7 суток. Следует тщательно перемешивать приготовленную суспензию магнитных частиц в «Буфере для связывания» перед каждым использованием.

4) Промаркировать глубокие планшеты 96 для KingFisher и внести в них реагенты согласно схеме (таблица 8):

Таблица 8 – Схема внесения реагентов в планшеты при использовании формы комплектации 2: Комплект реагентов «НК-Экстра-М» для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, углеводов и белков KingFisher Flex

№ планшета	Вносимый компонент	Количество, вносимое в каждую лунку планшета
Планшет 1	Смесь Магнитных частиц и Буфера для связывания	по 510 мкл
Планшет 2	Раствор для промывки №1	по 700 мкл
Планшет 3	Раствор для промывки №2	по 700 мкл
Планшет 4	Раствор для промывки №2	по 700 мкл
Планшет 5	Элюент	по 200 мкл

Для внесения реагентов может быть использован одноканальный или многоканальный автоматический дозатор переменного объема. Внесение реагентов может быть также выполнено с помощью автоматической станции пробоподготовки (например, Tecan серии Freedom EVO®). Внимание: каждый реагент вносится отдельным наконечником, не допускается попадание остатков одного реагента в другой.

5) Подготовить оборудование в соответствии с инструкцией по его применению.

6) Загрузить в прибор протокол из файла KingFisher Flex-НК-Экстра-KF-и (файл прилагается), соответствующий ниже приведенной схеме:

- лизис (Планшет 1): продолжительность – 5 минут, нагрев – быстрый, температура – 80 °C, перемешивание, повтор через 2 и 4 минуты.

- экстракция (Планшет 1): продолжительность – 10 минут, температура – 25 °С, перемешивание, повтор на 2-4-6-8 минутах, сбор магнитных частиц – 15 секунд.

- промыв 1 (Планшет 2): продолжительность - 120 секунд, температура – 25 °С, перемешивание, сбор магнитных частиц – 10 секунд

- промыв 2 (Планшет 3): продолжительность - 120 секунд, температура – 25 °С, перемешивание, сбор магнитных частиц – 10 секунд

- промыв 3 (Планшет 4): продолжительность - 120 секунд, температура – 25 °С, перемешивание, сбор магнитных частиц – 10 секунд

- элюция (Планшет 5): продолжительность – 10 минут, температура – 80 °С, перемешивание – медленное, повтор через 2-4-6-8 минут, сбор магнитных частиц – 10 секунд.

При использовании Формы комплектации 2 совместно с процессором магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex :

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

2) Перенести все содержимое пробирки с «Магнитными частицами» (960 мкл) во флакон с «Буфером для связывания». Данная смесь может храниться в течение 7 суток. Следует тщательно перемешивать приготовленную суспензию магнитных частиц в «Буфере для связывания» перед каждым использованием.

3) Промаркировать глубокие планшеты 96 для KingFisher и внести в них реагенты согласно схеме (таблица 9):

Таблица 9 – Схема внесения реагентов в планшеты при использовании формы комплектации 2: Комплект реагентов «НК-Экстра-KF-u» (нераскапанный) для автоматизированного выделения с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex

№ планшета	Вносимый компонент	Количество, вносимое в каждую лунку планшета
Планшет 1	Смесь Магнитных частиц и Буфера для связывания	по 510 мкл
Планшет 2	Раствор для промывки №1	по 700 мкл
Планшет 3	Раствор для промывки №2	по 700 мкл
Планшет 4	Раствор для промывки №2	по 700 мкл
Планшет 5	Элюент	по 200 мкл

Для внесения реагентов может быть использован одноканальный или многоканальный автоматический дозатор переменного объема. Внесение реагентов может быть также выполнено с помощью автоматической станции пробоподготовки (например, Tecan серии Freedom EVO®). Внимание: каждый реагент вносится отдельным наконечником, не допускается попадание остатков одного реагента в другой.

4) Подготовить оборудование в соответствии с инструкцией по его применению.

5) Загрузить в прибор протокол из файла KingFisher Flex-НК-Экстра-KF-u (файл прилагается), соответствующий ниже приведенной схеме:

- лизис (Планшет 1): продолжительность – 5 минут, нагрев – быстрый, температура – 80 °С, перемешивание, повтор через 2 и 4 минуты.

- экстракция (Планшет 1): продолжительность – 10 минут, температура – 25 °С, перемешивание, повтор на 2-4-6-8 минутах, сбор магнитных частиц – 15 секунд.

- промыв 1 (Планшет 2): продолжительность - 120 секунд, температура – 25 °С, перемешивание, сбор магнитных частиц – 10 секунд

- промыв 2 (Планшет 3): продолжительность - 120 секунд, температура – 25 °С, перемешивание, сбор магнитных частиц – 10 секунд

- промыв 3 (Планшет 4): продолжительность - 120 секунд, температура – 25 °С, перемешивание, сбор магнитных частиц – 10 секунд

- элюция (Планшет 5): продолжительность – 10 минут, температура – 80 °С, перемешивание – медленное, повтор через 2-4-8 минут, сбор магнитных частиц – 10 секунд.

При использовании Формы комплектации 3 совместно с процессором магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex:

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

2) Подготовить оборудование в соответствии с инструкцией по его применению.

3) Загрузить в прибор протокол из файла KingFisher Flex-НК-Экстра-KF-г (файл прилагается), соответствующий ниже приведенной схеме:

- лизис (Планшет 2): продолжительность – 5 минут, нагрев – быстрый, температура – 80 °С, перемешивание, повтор через 2 и 4 минуты,

- сбор МЧ и перенос из планшета 1 в планшет 2: сбор магнитных частиц 60 секунд, скорость медленная, температура 25 °С.

- экстракция (Планшет 2): продолжительность – 10 минут, температура – 25 °С, перемешивание, повтор на 2-4-6-8 минутах, сбор магнитных частиц – 15 секунд,

- промыв 1 (Планшет 3): продолжительность - 120 секунд, температура – 25 °С, перемешивание, сбор магнитных частиц – 10 секунд,

- промыв 2 (Планшет 4): продолжительность - 120 секунд, температура – 25 °С, перемешивание, сбор магнитных частиц – 10 секунд,

- промыв 3 (Планшет 5): продолжительность - 120 секунд, температура – 25 °С, перемешивание, сбор магнитных частиц – 10 секунд,

- элюция (Планшет 6): продолжительность – 10 минут, температура – 80 °С, перемешивание – медленное, повтор через 2-4-6-8 минут, сбор магнитных частиц – 10 секунд.

10. Проведение исследования

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

Процедура выделения ДНК/РНК набором реагентов «НК-Экстра» в форме комплектации 1 при ручном выделении.

Для каждого исследуемого образца приготовить и промаркировать по одной пробирке объемом 1,5-2 мл.

1. Добавить в каждую пробирку по 500 мкл буфера для связывания и по 10 мкл раствора магнитных частиц. В случае предварительного смешивания магнитных частиц с буфером для связывания, следует перенести в каждую пробирку по 510 мкл смеси буфера для связывания с магнитными частицами.

2. Внести по 100 мкл образца клинического материала в каждую пробирку, перемешать на вортексе 3-5 секунд.

3. Для лизиса инкубировать пробирки при 70°C в течение 5 минут, перемешивая раствор за время инкубации 1-2 раза на вортексе.

4. По завершении лизиса перенести пробирки в лабораторный штатив и инкубировать смесь для связывания ДНК/РНК при комнатной температуре в течение 10 минут, перемешивая раствор во время инкубации 2-3 раза путем переворачивания пробирок.

5. Поместить пробирки в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирок (обычно

ебуется 1-2 минуты) и удалить супернатант с помощью дозатора или аспиратора.

6. Внести в пробирки по 700 мкл раствора для промывки №1, плотно закрыть крышки, ресуспендировать магнитные частицы на ортексе, сбросить капли коротким центрифугированием.

7. Поместить пробирки в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирок и удалить супернатант.

8. Внести в пробирки по 700 мкл раствора для промывки №2, плотно закрыть крышки, ресуспендировать магнитные частицы на ортексе, сбросить капли коротким центрифугированием.

9. Поместить пробирки в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирки и удалить супернатант.

10. Повторить пункты 8 и 9.

11. Поместить пробирки с открытыми крышками в термостат и инкубировать при 70°C в течение 5 минут для просушки магнитных частиц и удаления остаточного спирта.

12. Внести в пробирки по 50 мкл элюента, используя отдельный наконечник с фильтром. Тщательно ресуспендировать магнитные частицы пипетированием, плотно закрыть крышки.

13. Инкубировать пробирки при 70°C в течение 10 минут. Во время инкубации 2-3 раза перемешать содержимое пробирок путем осторожного взбалтывания осадка.

14. Поместить пробирки в магнитный штатив, подождать, пока частицы полностью соберутся на стенке пробирок.

15. Перенести супернатант, содержащий выделенную ДНК/РНК, в новые пробирки. ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК/РНК осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Если целью выделения было получение препарата РНК, то его рекомендуется сразу использовать для постановки реакции обратной транскрипции.

Процедура выделения ДНК/РНК набором реагентов «НК-Экстра» в форме комплектации 1 совместно с роботизированной станцией пробоподготовки Tecan серии Freedom EVO®:

1. В программном обеспечении станции TECAN серии Freedom EVO® загрузить соответствующий протокол выделения для работы с набором «НК-Экстра» в форме комплектации 1.
2. Запустить станцию.
3. По завершении процедуры выделения ДНК/РНК, забрать из станции пробирки с выделенной ДНК/РНК.
4. Если целью выделения было получение препарата РНК, то его рекомендуется сразу использовать для постановки реакции обратной транскрипции.
5. Убрать из станции использованные расходные материалы, провести уборку в соответствии с инструкцией.\

Процедура выделения ДНК/РНК набором реагентов «НК-Экстра» в форме комплектации 1 совместно с процессором магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex :

1. В лунки планшета 1 внести по 100 мкл анализируемого образца клинического материала, перемешать пипетированием.
2. Расставить планшеты в соответствии с указаниями прибора и запустить процедуру выделения ДНК/РНК по загруженному протоколу работы процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex.
3. По окончании работы прибора, в лунках планшета 5 находится супернатант, содержащий выделенную ДНК/РНК.

Процедура выделения ДНК/РНК набором реагентов «НК-Экстра» в форме комплектации 2 совместно с процессором магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex :

4. В лунки планшета 1 внести по 100 мкл анализируемого образца клинического материала, перемешать пипетированием.
5. Расставить планшеты в соответствии с указаниями прибора и запустить процедуру выделения ДНК/РНК по загруженному

протоколу работы процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex.

6. По окончании работы прибора, в лунках планшета 5 находится супернатант, содержащий выделенную ДНК/РНК.

Процедура выделения ДНК/РНК набором реагентов «НК-экстра» в форме комплектации 3 совместно с процессором магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex :

1. В лунки планшета 2 внести по 100 мкл анализируемого образца клинического материала, перемешать пипетированием.

2. Расставить планшеты в соответствии с указаниями прибора и запустить процедуру выделения ДНК/РНК по загруженному протоколу работы процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher Flex.

3. По окончании работы прибора, в лунках планшета 6 находится супернатант, содержащий выделенную ДНК/РНК.

11. Возможные проблемы и их решение

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

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

- неполное высушивание частиц перед добавлением элюента – увеличить время сушки после удаления раствора для промывки №2;

- неполный лизис – после внесения лизирующего раствора как можно тщательнее суспендировать образец;

- большой объем буфера для элюирования – подберите оптимальный объем буфера для получения нужной концентрации ДНК/РНК.

2. Примеси белка – нужно добиваться максимально тщательного суспендирования магнитных частиц.

3. Возможная деградация ДНК/РНК. причина и возможное повреждение — старый образец, либо образец подвергся замораживанию-оттаиванию — необходимо провести сбор материала повторно. Избегать замораживания образца в процессе транспортировки и хранения. Выделенный препарат РНК не подлежит хранению, т.к. РНКазы, вызывающие деградацию РНК, отличаются многообразием, чрезвычайно активны, присутствуют повсеместно, их инактивация весьма трудоемка. Для предотвращения деградации ДНК/РНК следует использовать средства для деконтаминации от РНКаз для обработки рабочих поверхностей лаборатории, оборудования и расходного материала для ПЦР. Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится выделение ДНК/РНК, следует обязательно до и после проведения работ облучать бактерицидными лампами в течение 1 часа.

12. Условия хранения, транспортировки и эксплуатации набора

Хранение. Набор реагентов в упаковке предприятия-изготовителя хранить при температуре от +2 °С до +30 °С. Атмосферное давление не контролируется, т.к. не влияет на качество изделия.

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

Срок годности вскрытых компонентов набора в форме комплектации 1 и 2 - 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при условии хранения при температуре от +2 °С до +30 °С. Срок хранения смеси «Магнитных частиц» и «Буфера для связывания» — не более 7 суток.

Набор реагентов в форме комплектации 3 предназначен для однократного применения и рассчитан на выделение ДНК/РНК из 96 анализируемых образцов на процессоре магнитных частиц KingFisher Flex одновременно за цикл. В связи с этим оценка стабильности в процессе использования данной формы комплектации набора реагентов не проводилась.

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

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

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

Срок годности. Срок годности набора «НК-Экстра» 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

13. Утилизация

Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

В соответствии с классификацией медицинских отходов наборы относятся к классу А (эпидемиологически безопасные отходы, приближенные по составу к твердым бытовым отходам). Неиспользованные реактивы в соответствии с п. 170 СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических)

«проприятий» собираются в многоразовые емкости или многоразовые пакеты любого цвета (кроме жёлтого и красного).

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

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

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

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

14. Гарантийные обязательства, контакты

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

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

Общество с ограниченной ответственностью «ТестГен» (ООО «ТестГен»),

432072 г. Ульяновск, 44-й Инженерный проезд, дом 9, офис 13

Тел.: +7 (499) 705-03-75

www.testgen.ru

Служба технической поддержки:

Тел.: +7 927 981 58 81

E-mail: help@testgen.ru

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

Приложение А

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

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014	Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Ч.1. Основные требования.
ГОСТ ISO 13485-2017	Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования
ГОСТ 2.114-2016	Единая система конструкторской документации. Технические условия.
ГОСТ 2.104-2006	Единая система конструкторской документации (ЕСКД). Основные надписи
ГОСТ Р 1.3-2018	Стандартизация в Российской Федерации. Технические условия на продукцию. Общие требования к содержанию, оформлению, обозначению и обновлению.

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

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью
48 (сорок восемь) листов

Должность: ген. директор
Тороповский А.Н.

