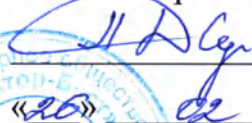


«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

 М.Д. Хусаинов

2024 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из образцов сыворотки
и плазмы крови

«РеалБест ЭкстраМаг»

(вариант 500)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из образцов сыворотки и плазмы крови «РеалБест ЭкстраМаг» предназначен для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из образцов сыворотки и плазмы крови (включая минипулы) как ручным способом, так и с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот «KingFisher Flex» («Thermo Fisher Scientific», Финляндия) или «RealFly» (АО «Вектор-Бест-Балтика», Россия). Допускается адаптация других станций для автоматического выделения нуклеиновых кислот для работы с набором.

1.2. Набор применяется с наборами для качественного и количественного определения нуклеиновых кислот серии «РеалБест».

1.3. **Вариант 500** набора рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 96 образцов, включая контрольные образцы, объемом 500 мкл.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип действия набора «РеалБест ЭкстраМаг» заключается в температурной обработке образца многокомпонентным лизирующим раствором, который разрушает комплексы нуклеиновых кислот с белками, и последующей сорбции нуклеиновых кислот на поверхности магнитных частиц. Далее проводятся серии отмывок, в ходе которых нуклеиновые кислоты остаются сорбированными на поверхности магнитных частиц, и элюция, в процессе которой нуклеиновые кислоты переходят с поверхности частиц в

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству Ткачевым В.К. и нач. отделения производства ПЦР наборов Трухиной А.В.

элюирующий раствор. После этого проба готова к постановке ПЦР/ОТ-ПЦР.

Эффективность пробоподготовки в каждом исследуемом образце оценивается с помощью внутреннего контрольного образца (ВКО), входящего в состав набора и проходящего все стадии пробоподготовки и следующих за ней ПЦР или ОТ-ПЦР вместе с выделяемыми нуклеиновыми кислотами. Положительный контрольный образец (ПКО) входит в состав ПЦР-наборов серии «РеалБест». ПКО проходит процедуру выделения наравне с биологическими пробами и отрицательным контрольным образцом (ОКО).

2.2. Состав набора:

Компонент набора (сокращение) Описание.	Количество
Лизирующий раствор (ЛР) <i>Жидкость от бесцветного до жёлтого цвета, допускается наличие осадка, исчезающего при нагревании, содержит гуанидин тиоцианат (57,3 %)</i>	4 флакона по 16 мл
Раствор для отмывки № 1 (PO1) <i>Жидкость от бесцветного до жёлтого цвета, допускается наличие осадка, исчезающего при нагревании, содержит гуанидин тиоцианат (57,3 %)</i>	4 флакона по 16 мл
Раствор для отмывки № 2 (PO2) <i>Бесцветная жидкость</i>	4 флакона по 56 мл
Элюирующий раствор (ЭР) <i>Бесцветная жидкость, содержит натрия аزيد (0,05%)</i>	4 флакона по 10 мл
Сорбент (суспензия магнитных частиц) <i>Содержит натрия аزيد (0,05%)</i>	4 флакона по 1,6 мл
Отрицательный контрольный образец (ОКО) <i>Жидкость желтого цвета, содержит натрия аزيد (0,05%)</i>	2 флакона по 12 мл
Внутренний контрольный образец (ВКО) <i>Бесцветная жидкость, содержит натрия аزيد (0,05%)</i>	2 флакона по 1 мл

В комплект поставки входят:

- набор реагентов;
- инструкция по применению и паспорт (количество копий определяется в договоре на поставку продукции).

Инструкция по применению и паспорт размещены на сайте <http://www.vector-best.ru>.

2.3. Условия применения.

Набор применяется с наборами для качественного и количественного определения нуклеиновых кислот серии «РеалБест».

Набор рассчитан на проведение выделения нуклеиновых кислот из 96 образцов объёмом 500 мкл, включая контрольные.

Показания к применению. Набор предназначен для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из образцов сыворотки и плазмы крови (включая минипулы) как ручным способом, так и с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот

«KingFisher Flex» («Thermo Fisher Scientific», Финляндия) или «RealFly» (АО «Вектор-Бест-Балтика»). Допускается адаптация других станций для автоматического выделения нуклеиновых кислот для работы с набором.

Противопоказания. Противопоказаний к применению нет (не применимо).

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Эффективность выделения РНК. Эффективность выделения РНК контролируется по четырем образцам с содержанием 50 копий/мл РНК ВГГ, приготовленным из стандартного образца предприятия СОП РНК ВГГ (СОП 05-2-519), как процентное содержание образцов, определенных набором «РеалБест РНК ВГГ» (АО «Вектор-Бест») как положительные.

3.2. Эффективность выделения ДНК. Эффективность выделения ДНК контролируется по четырем образцам с содержанием 100 копий/мл ДНК Parvovirus B19, приготовленным из стандартного образца предприятия СОП ДНК Parvovirus B19 (СОП 05-2-462), как процентное содержание образцов, определенных набором «РеалБест ДНК Parvovirus B19» (АО «Вектор-Бест») как положительные.

3.3. Влияние потенциальных интерферирующих веществ. Повышенное содержание общего белка (до 120 мг/мл), альбумина (до 60 мг/мл), триглицеридов (до 37 мМ), билирубина (до 342 мкМ), гемоглобина (до 2 мг/мл) и ДНК человека (до 2 мкг/мл) в образцах сыворотки или плазмы не оказывает влияния на эффективность выделения нуклеиновых кислот.

3.4. - Эффективность выделения ДНК/РНК, определенная на 137 клинических образцах сыворотки (плазмы) крови, составила 100 % (интервал 97,3 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с набором следует соблюдать требования законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике. К работе с набором допускается только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, прошедший подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с патогенными для человека микроорганизмами и получивший дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики (например, врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник (фельдшер-лаборант), иной специалист).

4.3. ОКО, ВКО, сорбент и элюирующий раствор содержат натрия азид, лизирующий раствор и раствор для отмывки №1 содержат гуанидина тиоцианат в концентрациях, указанных в п. 2.2 «Состав набора». При работе с указанными растворами следует надевать одноразовые медицинские перчатки, избегать попадания их компонентов на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть поражённое место большим количеством проточной воды.

4.4. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК/РНК и постановки ПЦР/ОТ-ПЦР согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

4.5. При работе с набором необходимо надевать одноразовые медицинские перчатки, использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

4.6. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

4.7. Не допускается использование одних и тех же наконечников при добавлении разных образцов и реагентов.

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все рабочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,8% раствор «Дезомакс-Иннова»; 1% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 1% раствор «Мистраль»; 1% раствор «Велтолен»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с 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».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

–ПЦР-бокс (например, бокс абактериальной воздушной среды типа БАВп-01-«Ламинар-С», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, РУ № ФСР 2010/07111);

- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2-8) °С;
- встряхиватель для пробирок типа «Вортекс» (например, «Bio-Vortex V-1 plus», BioSan, Латвия, РУ № ФСЗ 2011/09797);
- микроцентрифуга, типа «Eppendorf» обеспечивающая относительное центробежное ускорение не менее 2000 × g (например, «MiniSpin», Eppendorf, Германия, РУ № ФСЗ 2012/13316);
- дозаторы одноканальные с переменным объемом, со сменными наконечниками (например, Sartorius, Германия, РУ № РЗН 2019/9356);
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром/аэрозольным барьером (например, Sartorius, Германия, РУ № РЗН 2020/9707);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопре-
новые (например, перчатки «NeoTouch», Ansell HealthCare, Германия);
- контейнер для сбора отходов (например, «Контейнер для сбора острого инструментария –
МК-01», КМ-Проект, Россия, РУ № РЗН 2017/5395).

Дополнительно для ручной процедуры:

- термошейкер – термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить перемешивание при 1300 об/мин и температуре (60–90) °С (например, «Thermo Shaker TS-100» с блоком для 24 пробирок объемом 2,0 мл, BioSan, Латвия, РУ № РЗН 2022/16327);
- отсасыватель медицинский В-40 (например, ВИСМА-ПЛАНАР, Республика Беларусь, РУ № ФСЗ 2012/12851);
- одноразовые наконечники для дозаторов без защитного фильтра (например, Sarstedt, Германия, РУ № ФСЗ 2009/04699);
- одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 2 мл (например, Sarstedt, Германия, РУ № ФСЗ 2009/04699);
- магнитный штатив на 24 пробирки объемом 2 мл (например, АО «Вектор-Бест», Россия);
- штативы для микропробирок объемом 2 мл (например, «Хеликон», Россия, РУ № РЗН 2022/16372).

Дополнительно для автоматической процедуры с использованием KingFisher Flex или RealFly:

- процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот «KingFisher Flex» (Thermo Fisher Scientific, Финляндия, РУ № ФСЗ 2009/05562) или «RealFly» (АО «Вектор-Бест-Балтика», Россия, РУ № РЗН 2022/17782);
- дозатор восьмиканальный электронный переменного объема, со сменными наконечниками, обеспечивающий возможность дозирования объемов до 1000 мкл (например, Thermo Fisher Scientific, Финляндия, 100-1200 мкл, РУ № РЗН 2016/3779);
- ванночки для реагентов (для многоканальных пипеток-дозаторов) объемом от 30 мл

(например, ООО «Компания Совтех», Россия, РУ № РЗН 2019/8202);

- Гребенка наконечников, совместимая с автоматизированными системами выделения нуклеиновых кислот (например, Thermo Fisher Scientific, Финляндия, РУ № ФСЗ 2009/05562);

- Глубоколуночный планшет 96 лунок, объемом 2,2 мл, совместимый с автоматизированными системами выделения нуклеиновых кислот (например, Thermo Fisher Scientific, Финляндия, РУ № ФСЗ 2009/05562);

— (опционально) микропланшетный автоматический раскапыватель для 96-луночных планшетов (например, диспенсер микропланшетный «Multidrop DW», Thermo Fisher Scientific, Финляндия, РУ № РЗН 2015/2314).

6. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

6.1. Подготовка образцов сыворотки (плазмы) крови

В течение 6 часов* после взятия крови следует выполнить центрифугирование для получения сыворотки или плазмы (для получения плазмы использовать ЭДТА в качестве антикоагулянта). Следуйте инструкции производителя пробирок для получения сыворотки или плазмы крови.

При использовании вакуумированных пробирок для забора венозной крови без разделительного геля полученную в результате центрифугирования сыворотку или плазму следует отобрать в отдельную пробирку.

При использовании вакуумированных пробирок для забора венозной крови с разделительным гелем в случае, если центрифугирование и анализ проводятся с интервалом, не превышающим 5 суток**, допускается отбор сыворотки или плазмы для анализа непосредственно из первичной пробирки. При этом хранить образец следует при температуре (2-8) °С. В случае, если центрифугирование и анализ проводятся с интервалом более 5 суток**, полученную в результате центрифугирования сыворотку или плазму следует отобрать в отдельную пробирку и заморозить при температуре, не превышающей минус 18 °С***.

Хранить образцы сыворотки или плазмы при температуре (18-26) °С до 2 часов; при температуре (2-8) °С не более 5 суток**; при температуре, не превышающей минус 18 °С***, не более 1 года. Не рекомендуется более чем однократное замораживание-оттаивание проб.

Образцы сыворотки или плазмы крови, находящиеся в заморозке во вторичных пробирках, перед использованием необходимо разморозить и перемешать на вортексе 3 раза по 2-3 секунды, после чего центрифугировать при температуре (18-26) °С при 2000 × g в течение 5

минут. Для проведения анализа требуется 500 мкл сыворотки или плазмы крови (допускается выделение из меньшего объема).

** Для некоторых исследований рекомендуемое время, в течение которого следует выполнить центрифугирование для получения сыворотки или плазмы, может составлять менее 6 часов. Необходимо соблюдать требования соответствующих стандартов для исследований такого рода.*

*** Для некоторых исследований рекомендуемая максимальная продолжительность временного хранения образца сыворотки или плазмы перед проведением анализа при температуре (2-8) °C может составлять менее 5 суток. Необходимо соблюдать требования соответствующих стандартов для исследований такого рода.*

**** Для некоторых исследований рекомендуемая максимальная температура хранения образца сыворотки или плазмы может быть ниже минус 18°C. Необходимо соблюдать требования соответствующих стандартов для исследований такого рода.*

6.2. Подготовка контрольных образцов и ГРС.

Подготовить необходимые контрольные и калибровочные (при необходимости) образцы и готовые реакционные смеси (ГРС), входящие в состав наборов для выявления нуклеиновых кислот (НК) серии «РеалБест», в соответствии с инструкцией к данным наборам.

6.3. Подготовка компонентов набора.

Перед началом работы извлечь набор реагентов из холодильника, вскрыть упаковку. Все компоненты, за исключением лизирующего раствора и раствора для отмывки № 1, выдержать при температуре (18-26) °C не менее 30 минут.

Флаконы с лизирующим раствором и раствором для отмывки № 1 прогреть при температуре (50-60) °C для растворения осадка в течение 30 мин, содержимое флаконов аккуратно перемешать переворачиванием 10-15 раз, избегая образования пены.

При детальном использовании лизирующий раствор и раствор для отмывки № 1 после прогрева допускается хранить при температуре (18-26) °C в течение 7 суток. В этом случае они не будут требовать повторного прогрева перед использованием.

7. ВЫДЕЛЕНИЕ НК РУЧНЫМ СПОСОБОМ

7.1. Отобрать и подписать необходимое для работы количество пробирок объемом 2 мл – по количеству исследуемых образцов, включая необходимые контроли. Количество контрольных образцов указано в инструкции к набору для выявления НК.

7.2. При выделении НК из 24 образцов:

Для проведения процедуры выделения из 24 образцов, включая контроли, понадобится по одному флакону каждого компонента из набора.

7.2.1. Во флакон с лизирующим раствором добавить 350 мкл ВКО.

7.2.2. Тщательно перемешать на вортексе содержимое флакона с **сорбентом** и перенести все содержимое (1,6 мл) во флакон с лизирующим раствором с ВКО.

Внимание! Лизирующий раствор после вскрытия и добавления ВКО и сорбента хранению не подлежит.

7.2.3. Аккуратно перемешать флакон с лизирующим раствором с ВКО и сорбентом переворачиванием 8-10 раз, избегая образования пены, и внести в подготовленные (п. 7.1) пробирки по **550 мкл лизирующего раствора с ВКО и сорбентом**.

Внимание! В процессе розлива лизирующего раствора с ВКО и сорбентом необходимо следить, чтобы суспензия оставалась однородной. Необходимо придерживаться следующего правила: с момента последнего перемешивания лизирующего раствора с ВКО и сорбентом должно проходить не более 1 минуты; если за это время процесс розлива лизирующего раствора с ВКО и сорбентом не был завершён, следует закрыть флакон крышкой и аккуратно перемешать смесь переворачиванием, после чего продолжить розлив.

7.3. **При выделении НК менее чем из 24 образцов:**

7.3.1. Внести в подготовленные пробирки (п. 7.1) по **500 мкл лизирующего раствора**.

7.3.2. Во флакон с сорбентом добавить 350 мкл ВКО, тщательно перемешать на вортексе и добавить по 60 мкл готовой смеси в каждую пробирку с предварительно внесённым лизирующим раствором.

Внимание! В процессе розлива сорбента с ВКО необходимо следить, чтобы суспензия оставалась однородной. Необходимо придерживаться следующего правила: с момента последнего перемешивания сорбента с ВКО должно проходить не более 1 минуты; если за это время процесс розлива не был завершён, следует закрыть флакон и тщательно перемешать суспензию на вортексе, после чего продолжить розлив.

Внимание! Сорбент после вскрытия и добавления ВКО можно хранить при температуре (2-8) °C не более 7 суток.

7.4. В пробирку для ОКО внести **500 мкл ОКО**, используя наконечник с аэрозольным барьером.

7.5. В пробирку для СПКО (если входит в состав набора для выявления НК) внести **100 мкл СПКО и 400 мкл ОКО**, используя наконечники с аэрозольным барьером.

В пробирку для ПКО (КО1, КО2 при необходимости) внести **30 мкл ПКО (КО1, КО2) и 470 мкл ОКО**, используя наконечники с аэрозольным барьером.

7.6. В остальные пробирки внести по **500 мкл исследуемых образцов**, используя наконечники с аэрозольным барьером.

7.7. Пробирки перенести в термошейкер и инкубировать при 60 °C с частотой вращения 1300 об/мин в течение 15 минут.

7.8. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

7.9. Перенести пробирки в магнитный штатив и выдержать 2 минуты.

7.10. Из каждой пробирки с помощью медицинского отсасывателя максимально полно удалить надосадочную жидкость, используя отдельный наконечник (без фильтра) и не прикасаясь к осадку магнитных частиц.

7.11. В каждую пробирку внести по 500 мкл раствора для отмывки № 1, перемешать на вортексе 5-10 секунд. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

7.12. Перенести пробирки в магнитный штатив и выдержать 2 минуты.

7.13. Из каждой пробирки с помощью медицинского отсасывателя максимально полно удалить надосадочную жидкость, используя отдельный наконечник (без фильтра) и не прикасаясь к осадку магнитных частиц.

7.14. В каждую пробирку внести по 1 мл раствора для отмывки № 2, перемешать на вортексе 5-10 секунд. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

7.15. Перенести пробирки в магнитный штатив и выдержать 2 минуты.

7.16. Из каждой пробирки с помощью медицинского отсасывателя максимально полно удалить надосадочную жидкость, используя отдельный наконечник (без фильтра) и не прикасаясь к осадку магнитных частиц.

7.17. Повторить процедуру отмывки раствором для отмывки № 2 с п.7.14. по п.7.16.

7.18. В каждую пробирку внести по 200 мкл элюирующего раствора, не задевая стенок. При касании стенки или жидкости в пробирке наконечник необходимо сменить!

7.19. Аккуратно встряхнуть пробирки до достижения содержимым состояния гомогенной суспензии (не допуская попадания капель на крышку), переместить пробирки в термошейкер и инкубировать с частотой вращения 1300 об/мин при 90 °С в течение 5 минут.

7.20. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

7.21. Перенести пробирки в магнитный штатив и выдержать 10 минут.

7.22. Образцы из пробирок, находящихся в магнитном штативе, раскапать в реакционные смеси для ПЦР- и/или ОТ-ПЦР-анализа (согласно инструкции по применению набора для выявления НК).

Внимание! Рекомендуется проводить раскапывание выделенной НК в реакционные смеси для ПЦР- и/или ОТ-ПЦР-анализа сразу после окончания процедуры пробоподготовки. При необходимости выделенную НК хранить при температуре (2-8) °С не более, чем 24 часа.

8. ВЫДЕЛЕНИЕ НК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ KINGFISHER FLEX или REALFLY

8.1. Промаркировать 6 глубоколоночных планшетов: ГР, ЛР, РО1, ЭР – по 1 планшету;

PO2 – 2 планшета. Один комплект планшетов позволяет провести выделение НК из 96 образцов, включая контроли. При внесении реагентов и образцов ориентировать планшеты следует таким образом, чтобы лунка А1 находилась слева сверху.

8.2. Составить схему размещения контрольных и исследуемых образцов в глубоколоночном планшете на трафарете (Таблица 1). Перечень и требуемое количество контрольных образцов указано в инструкции к набору для ПЦР (ОТ-ПЦР).

Таблица 1.

Пример схемы размещения контрольных и исследуемых образцов.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ОКО	№4	№12									
B	СПКО	№5	...									
C	ПКО	№6										
D	ПКО	№7										
E	ПКО	№8										
F	№1	№9										
G	№2	№10										
H	№3	№11										

8.3. В глубоколоночный планшет ГР поместить насадку на магнитную головку.

8.4. Внести в соответствующие лунки планшетов растворы в соответствии с таблицей 2. Для внесения растворов использовать многоканальный электронный дозатор и ванночки для реагентов. Раствор для отмывки №2 и элюирующий раствор могут быть также внесены с помощью микропланшетного раскапывателя.

Таблица 2.

Раствор	Объем раствора на лунку, мкл	Маркировка планшета
Раствор для отмывки № 1	500	PO1
Раствор для отмывки № 2	1000	PO2
Раствор для отмывки № 2	1000	PO2
Элюирующий раствор	200	ЭР

8.5. Во флакон с лизирующим раствором добавить 350 мкл ВКО.

8.6. Тщательно перемешать на вортексе содержимое флакона с сорбентом и перенести все содержимое (1,6 мл) во флакон с лизирующим раствором с ВКО.

Внимание! Лизирующий раствор после вскрытия и добавления ВКО и сорбента хранению не подлежит.

8.7. Аккуратно перемешать флакон с лизирующим раствором с ВКО и сорбентом переворачиванием 8-10 раз, избегая образования пены и внести в лунки глубоколоночного планшета ЛР по 550 мкл лизирующего раствора с ВКО и сорбентом. Для внесения раствора

использовать многоканальный электронный дозатор и ванночку для реагентов.

Внимание! В процессе розлива лизирующего раствора с ВКО и сорбентом необходимо следить, чтобы суспензия оставалась однородной. Необходимо придерживаться следующего правила: с момента последнего перемешивания лизирующего раствора с ВКО и сорбентом должно проходить не более 1 минуты; если за это время процесс розлива лизирующего раствора с ВКО и сорбентом не был завершён, следует аккуратно перемешать суспензию типетированием, после чего продолжить розлив.

8.8. В лунку глубоколоночного планшета ЛР, обозначенную в таблице 1 как «ОКО», внести 500 мкл ОКО, используя наконечники с аэрозольным барьером.

8.9. В лунку глубоколоночного планшета ЛР, обозначенную в таблице 1 как «СПКО», внести 100 мкл СПКО и 400 мкл ОКО, используя наконечники с аэрозольным барьером.

В лунку глубоколоночного планшета ЛР, обозначенную в таблице 1 как «ПКО» (КО1, КО2 при необходимости) внести 30 мкл ПКО (КО1, КО2) и 470 мкл ОКО, используя наконечники с аэрозольным барьером.

8.10. В остальные лунки глубоколоночного планшета ЛР внести по 500 мкл исследуемых образцов согласно таблице 1, используя наконечники с аэрозольным барьером.

8.11. Включить процессор «KingFisher Flex» («RealFly») и персональный компьютер, управляющий процессором.

8.12. Запустить на персональном компьютере программное обеспечение «KingFisher Flex» («RealFly») и выбрать протокол выделения НК «РеалБест ЭкстраМаг 500».

Подробная инструкция по запуску протокола выделения с использованием программного обеспечения приведена на сайте <https://vector-best.ru/>.

8.13. По запросу программного обеспечения процессора «KingFisher Flex» («RealFly») установить глубоколоночные планшеты в прибор: ГР, ЭР, РО2, РО2, РО1, ЛР. После установки планшета ЛР запустится процесс выделения НК.

8.14. По окончании протокола выделения НК прибор подаст звуковой сигнал.

8.15. Образцы, находящиеся в глубоколоночном планшете ЭР, раскапать в реакционные смеси для ПЦР- и/или ОТ-ПЦР-анализа (согласно инструкции по применению набора для выявления НК).

Внимание! Рекомендуется проводить раскапывание выделенной НК в реакционные смеси для ПЦР- и/или ОТ-ПЦР-анализа сразу после окончания процедуры пробоподготовки.

При необходимости выделенную НК хранить при температуре (2-8) °C не более, чем 24 часа.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

9.2. Хранение набора реагентов в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. При дробном использовании вскрытые компоненты набора следует хранить не более 1 месяца при температуре (2-8) °С. Допускается хранение лизирующего раствора и раствора для отмывки № 1 при температуре (18-26) °С в течение 7 суток.

9.4. Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.5. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение данной инструкции по применению набора.

9.6. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

10.3. Производитель обязуется за свой счет 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.

Инструкция по применению и паспорт размещены на сайте <http://www.vector-best.ru>.

По вопросам, касающимся качества набора «РеалБест ЭкстраМаг», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 252-51-62, 227-60-30; тел./факс (383), 252-51-81, 252-51-77.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 252-51-75.

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

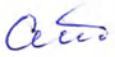
Символ	Описание	Символ	Описание
	Номер по каталогу		Осторожно!
	Содержимого достаточно для проведения n тестов		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до...		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц		

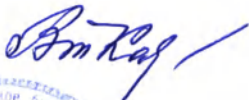
Начальник отделения
производства ПЦР-наборов
АО «Вектор-Бест»

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор

М.П.

 А.В. Трухина

 В.К. Ткачев

 Т.И. Пospelова



Пропиновано, пронумеровано и
скреплено печатью 13 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Л.Н. Захарова Захарова Л.Н.
"26" 02 2024 г.



«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»



М.Д. Хусаинов

2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из образцов сыворотки
и плазмы крови

«РеалБест ЭкстраМаг»

(вариант 1000)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из образцов сыворотки и плазмы крови «РеалБест ЭкстраМаг» предназначен для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из образцов сыворотки и плазмы крови (включая минипулы) как ручным способом, так и с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот «KingFisher Flex» («Thermo Fisher Scientific», Финляндия) или «RealFly» (АО «Вектор-Бест-Балтика», Россия).. Допускается адаптация других станций для автоматического выделения нуклеиновых кислот для работы с набором.

1.2. Набор применяется с наборами для качественного и количественного определения нуклеиновых кислот серии «РеалБест».

1.3. **Вариант 1000** набора рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 96 образцов, включая контрольные образцы, объемом 1000 мкл.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип действия набора «РеалБест ЭкстраМаг» заключается в температурной обработке образца многокомпонентным лизирующим раствором, который разрушает комплексы нуклеиновых кислот с белками, и последующей сорбции нуклеиновых кислот на поверхности магнитных частиц. Далее проводятся серии отмывок, в ходе которых нуклеиновые кислоты остаются сорбированными на поверхности магнитных частиц, и элюция, в процессе которой нуклеиновые кислоты переходят с поверхности частиц в

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству Ткачевым В.К. и нач. отделения производства ПЦР наборов Трухиной А.В.

элюирующий раствор. После этого проба готова к постановке ПЦР/ОТ-ПЦР.

Эффективность пробоподготовки в каждом исследуемом образце оценивается с помощью внутреннего контрольного образца (ВКО), входящего в состав набора и проходящего все стадии пробоподготовки и следующих за ней ПЦР или ОТ-ПЦР вместе с выделяемыми нуклеиновыми кислотами. Положительный контрольный образец (ПКО) входит в состав ПЦР-наборов серии «РеалБест». ПКО проходит процедуру выделения наравне с биологическими пробами и отрицательным контрольным образцом (ОКО).

2.2. Состав набора:

Компонент набора (сокращение) Описание.	Количество
Лизирующий раствор (ЛР) <i>Жидкость от бесцветного до жёлтого цвета, допускается наличие осадка, исчезающего при нагревании, содержит гуанидин тиоцианат (57,3 %)</i>	4 флакона по 28 мл
Раствор для отмывки № 1 (PO1) <i>Жидкость от бесцветного до жёлтого цвета, допускается наличие осадка, исчезающего при нагревании, содержит гуанидин тиоцианат (57,3 %)</i>	4 флакона по 16 мл
Раствор для отмывки № 2 (PO2) <i>Бесцветная жидкость</i>	4 флакона по 56 мл
Элюирующий раствор (ЭР) <i>Бесцветная жидкость, содержит натрия азид (0,05%)</i>	4 флакона по 10 мл
Сорбент (суспензия магнитных частиц) <i>Содержит натрия азид (0,05%)</i>	4 флакона по 3 мл
Отрицательный контрольный образец (ОКО) <i>Жидкость желтого цвета, содержит натрия азид (0,05%)</i>	2 флакона по 12 мл
Внутренний контрольный образец (ВКО) <i>Бесцветная жидкость, содержит натрия азид (0,05%)</i>	2 флакона по 1 мл

В комплект поставки входят:

- набор реагентов;
- инструкция по применению и паспорт (количество копий определяется в договоре на поставку продукции).

Инструкция по применению и паспорт размещены на сайте <http://www.vector-best.ru>.

2.3. Условия применения.

Набор применяется с наборами для качественного и количественного определения нуклеиновых кислот серии «РеалБест».

Набор рассчитан на проведение выделения нуклеиновых кислот из 96 образцов объемом 1000 мкл, включая контрольные.

Показания к применению. Набор предназначен для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из образцов сыворотки и плазмы крови (включая минипулы) как ручным способом, так и с использованием процессора магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот «KingFisher Flex» («Thermo Fisher Scientific», Финляндия) или «RealFly» (АО «Вектор-Бест-Балтика»). Допускается адаптация других станций для автоматического выделения нуклеиновых кислот для работы с набором.

Противопоказания. Противопоказаний к применению нет (не применимо).

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Эффективность выделения РНК. Эффективность выделения РНК контролируется по четырем образцам с содержанием 50 копий/мл РНК ВГГ, приготовленным из стандартного образца предприятия СОП РНК ВГГ (СОП 05-2-519), как процентное содержание образцов, определенных набором «РеалБест РНК ВГГ» (АО «Вектор-Бест») как положительные.

3.2. Эффективность выделения ДНК. Эффективность выделения ДНК контролируется по четырем образцам с содержанием 100 копий/мл ДНК Parvovirus B19, приготовленным из стандартного образца предприятия СОП ДНК Parvovirus B19 (СОП 05-2-462), как процентное содержание образцов, определенных набором «РеалБест ДНК Parvovirus B19» (АО «Вектор-Бест») как положительные.

3.3. Влияние потенциальных интерферирующих веществ. Повышенное содержание общего белка (до 120 мг/мл), альбумина (до 60 мг/мл), триглицеридов (до 37 мМ), билирубина (до 342 мкМ), гемоглобина (до 2 мг/мл) и ДНК человека (до 2 мкг/мл) в образцах сыворотки или плазмы не оказывает влияния на эффективность выделения нуклеиновых кислот.

3.4. - Эффективность выделения ДНК/РНК, определенная на 137 клинических образцах сыворотки (плазмы) крови, составила 100 % (интервал 97,3 % - 100 %, с доверительной вероятностью 95 %).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2Б (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. При работе с набором следует соблюдать требования законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия. Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике. К работе с набором допускается только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским, или биологическим образованием, прошедший подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с патогенными для человека микроорганизмами и получивший дополнительное специальное

образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики (например, врач клинической лабораторной диагностики, медицинский лабораторный техник (фельдшер-лаборант), иной специалист).

4.3. ОКО, ВКО, сорбент и элюирующий раствор содержат натрия азид, лизирующий раствор и раствор для отмывки №1 содержат гуанидина тиоцианат в концентрациях, указанных в п. 2.2 «Состав набора». При работе с указанными растворами следует надевать одноразовые медицинские перчатки, избегать попадания их компонентов на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть поражённое место большим количеством проточной воды.

4.4. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК/РНК и постановки ПЦР/ОТ-ПЦР согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

4.5. При работе с набором необходимо надевать одноразовые медицинские перчатки, использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

4.6. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором дозаторов переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

4.7. Не допускается использование одних и тех же наконечников при добавлении разных образцов и реагентов.

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все рабочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,8% раствор «Дезомакс-Иннова»; 1% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 1% раствор «Мистраль»; 1% раствор «Велтолен»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с 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».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ПЦР-бокс (например, бокс абактериальной воздушной среды типа БАВп-01-"Ламинар-С", ЗАО «Ламинарные системы», Россия, РУ № ФСР 2010/07111);
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2-8) °С;
- встряхиватель для пробирок типа «Вортекс» (например, «Bio-Vortex V-1 plus», BioSan, Латвия, РУ № ФСЗ 2011/09797);
- микроцентрифуга, типа «Eppendorf» обеспечивающая относительное центробежное ускорение не менее $2000 \times g$ (например, «MiniSpin», Eppendorf, Германия, РУ № ФСЗ 2012/13316);
- дозаторы одноканальные с переменным объемом, со сменными наконечниками (например, Sartorius, Германия, РУ № РЗН 2019/9356);
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром/аэрозольным барьером (например, Sartorius, Германия, РУ № РЗН 2020/9707);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (например, перчатки «NeoTouch», Ansell HealthCare, Германия);
- контейнер для сбора отходов (например, «Контейнер для сбора острого инструментария – МК-01», КМ-Проект, Россия, РУ № РЗН 2017/5395).

Дополнительно для ручной процедуры:

- термошейкер – термостатируемый шейкер орбитального типа, позволяющий проводить перемешивание при 1300 об/мин и температуре (60–90) °С (например, «Thermo Shaker TS-100» с блоком для 24 пробирок объемом 2,0 мл, BioSan, Латвия, РУ № РЗН 2022/16327);
- отсасыватель медицинский В-40 (например, ВИСМА-ПЛАНАР, Республика Беларусь, РУ № ФСЗ 2012/12851);
- одноразовые наконечники для дозаторов без защитного фильтра (например, Sarstedt, Германия, РУ № ФСЗ 2009/04699);
- одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 2 мл (например, Sarstedt, Германия, РУ № ФСЗ 2009/04699);
- магнитный штатив на 24 пробирки объемом 2 мл (например, АО «Вектор-Бест», Россия);
- штативы для микропробирок объемом 2 мл (например, «Хеликон», Россия, РУ № РЗН 2022/16372).

Дополнительно для автоматической процедуры с использованием KingFisher Flex или RealFly:

- процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот «KingFisher Flex» (Thermo Fisher Scientific, Финляндия, РУ № ФСЗ 2009/05562) или «RealFly» (АО «Вектор-Бест-Балтика», Россия, РУ № РЗН 2022/17782);

– дозатор восьмиканальный электронный переменного объема, со сменными наконечниками, обеспечивающий возможность дозирования объемов до 1000 мкл (например, Thermo Fisher Scientific, Финляндия, 100-1200 мкл, РУ № РЗН 2016/3779);

- ванночки для реагентов (для многоканальных пипеток-дозаторов) объемом от 30 мл (например, ООО «Компания Совтех», Россия, РУ № РЗН 2019/8202);

- Гребенка наконечников, совместимая с автоматизированными системами выделения нуклеиновых кислот (например, Thermo Fisher Scientific, Финляндия, РУ № ФСЗ 2009/05562);

- Глубоколуночный планшет 96 лунок, объемом 2,2 мл, совместимый с автоматизированными системами выделения нуклеиновых кислот (например, Thermo Fisher Scientific, Финляндия, РУ № ФСЗ 2009/05562);

– (опционально) микропланшетный автоматический раскапыватель для 96-луночных планшетов (например, диспенсер микропланшетный «Multidrop DW», Thermo Fisher Scientific, Финляндия, РУ № РЗН 2015/2314).

6. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

6.1. Подготовка образцов сыворотки (плазмы) крови

В течение 6 часов* после взятия крови следует выполнить центрифугирование для получения сыворотки или плазмы (для получения плазмы использовать ЭДТА в качестве антикоагулянта). Следуйте инструкции производителя пробирок для получения сыворотки или плазмы крови.

При использовании вакуумированных пробирок для забора венозной крови без разделительного геля полученную в результате центрифугирования сыворотку или плазму следует отобрать в отдельную пробирку.

При использовании вакуумированных пробирок для забора венозной крови с разделительным гелем в случае, если центрифугирование и анализ проводятся с интервалом, не превышающим 5 суток**, допускается отбор сыворотки или плазмы для анализа непосредственно из первичной пробирки. При этом хранить образец следует при температуре (2-8) °С. В случае, если центрифугирование и анализ проводятся с интервалом более 5 суток**, полученную в результате центрифугирования сыворотку или плазму следует отобрать в отдельную пробирку и заморозить при температуре, не превышающей минус 18 °С***.

Хранить образцы сыворотки или плазмы при температуре (18-26) °С до 2 часов; при температуре (2-8) °С не более 5 суток**; при температуре, не превышающей минус 18 °С***, не более 1 года. Не рекомендуется более чем однократное замораживание-оттаивание проб.

Образцы сыворотки или плазмы крови, находящиеся в заморозке во вторичных пробирках, перед использованием необходимо разморозить и перемешать на вортексе 3 раза по 2-3 сек, после чего центрифугировать при температуре (18-26) °С при 2000 × g в течение 5 минут. Для проведения анализа требуется 1 мл сыворотки или плазмы крови (допускается выделение из меньшего объема).

** Для некоторых исследований рекомендуемое время, в течение которого следует выполнить центрифугирование для получения сыворотки или плазмы, может составлять менее 6 часов. Необходимо соблюдать требования соответствующих стандартов для исследований такого рода.*

*** Для некоторых исследований рекомендуемая максимальная продолжительность временного хранения образца сыворотки или плазмы перед проведением анализа при температуре (2-8) °С может составлять менее 5 суток. Необходимо соблюдать требования соответствующих стандартов для исследований такого рода.*

**** Для некоторых исследований рекомендуемая максимальная температура хранения образца сыворотки или плазмы может быть ниже минус 18°С. Необходимо соблюдать требования соответствующих стандартов для исследований такого рода.*

6.2. Подготовка контрольных образцов и ГРС.

Подготовить необходимые контрольные и калибровочные (при необходимости) образцы и готовые реакционные смеси (ГРС), входящие в состав наборов для выявления нуклеиновых кислот серии «РеалБест», в соответствии с инструкцией к данным наборам.

6.3. Подготовка компонентов набора.

Перед началом работы извлечь набор реагентов из холодильника, вскрыть упаковку. Все компоненты, за исключением лизирующего раствора и раствора для отмывки № 1, выдержать при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.

Флаконы с лизирующим раствором и раствором для отмывки № 1 прогреть при температуре (50-60) °С для растворения осадка в течение 30 мин, содержимое флаконов аккуратно перемешать переворачиванием 10-15 раз, избегая образования пены.

При дробном использовании лизирующий раствор и раствор для отмывки № 1 после прогрева допускается хранить при температуре (18-26) °С в течение 7 суток. В этом случае они не будут требовать повторного прогрева перед использованием.

7. ВЫДЕЛЕНИЕ НК РУЧНЫМ СПОСОБОМ

7.1. Отобрать и подписать необходимое для работы количество пробирок объемом 2 мл

в расчете по две пробирки на каждый исследуемый и контрольный образец. Перечень и количество контрольных образцов указаны в инструкции к набору для ПЦР.

Пояснение. Если выделение НК проводится из 12 образцов, включая контроли, то потребуется 24 пробирки объемом 2 мл и один термошейкер. Если выделение проводится из 24 образцов, включая контроли, то потребуется 48 пробирок объемом 2 мл и два термошейкера.

Внимание! Процедура выделения НК из 1 мл образца предполагает первоначальное деление образца на две части по 0,5 мл, при этом указанные две части одного образца проходят стадию лизиса в двух разных пробирках. В связи с этим для каждого контрольного и исследуемого образца требуется пара пробирок с одинаковой маркировкой, и каждый образец (как контрольный, так и исследуемый) должен быть добавлен в пару пробирок (см. п. 7.4, 7.5 и 7.6).

7.2. При выделении НК из 24 образцов:

Для проведения процедуры выделения из 24 образцов, включая контроли, понадобится по одному флакону каждого компонента из набора.

7.2.1. Во флакон с лизирующим раствором добавить 300 мкл ВКО.

7.2.2. Тщательно перемешать на вортексе содержимое флакона с сорбентом и перенести все содержимое (3 мл) во флакон с лизирующим раствором с ВКО.

Внимание! Лизирующий раствор после вскрытия и добавления ВКО и сорбента хранению не подлежит.

7.2.3. Аккуратно перемешать флакон с лизирующим раствором с ВКО и сорбентом переворачиванием 8-10 раз, избегая образования пены, и внести в подготовленные (п. 7.1) пробирки по 550 мкл лизирующего раствора с ВКО и сорбентом.

Внимание! В процессе розлива лизирующего раствора с ВКО и сорбентом необходимо следить, чтобы суспензия оставалась однородной. Необходимо придерживаться следующего правила: с момента последнего перемешивания лизирующего раствора с ВКО и сорбентом должно проходить не более 1 минуты; если за это время процесс розлива лизирующего раствора с ВКО и сорбентом не был завершён, следует закрыть флакон крышкой и аккуратно перемешать смесь переворачиванием, после чего продолжить розлив.

7.3. При выделении НК менее чем из 24 образцов:

7.3.1. Внести в подготовленные пробирки (п. 7.1) по 500 мкл лизирующего раствора.

7.3.2. Во флакон с сорбентом добавить 300 мкл ВКО, тщательно перемешать на вортексе и добавить по 60 мкл готовой смеси в каждую пробирку с предварительно внесенным лизирующим раствором.

Внимание! В процессе розлива сорбента с ВКО необходимо следить, чтобы суспензия

оставалась однородной. Необходимо придерживаться следующего правила: с момента последнего перемешивания сорбента с ВКО должно проходить не более 1 минуты; если за это время процесс розлива не был завершён, следует закрыть флакон и тщательно перемешать суспензию на вортексе, после чего продолжить розлив.

Внимание! Сорбент после вскрытия и добавления ВКО можно хранить при температуре (2-8) °C не более 7 суток.

7.4. В **пару** пробирок для ОКО внести **500 мкл ОКО**, используя наконечник с аэрозольным барьером.

7.5. В **пару** пробирок для СПКО (если входит в состав набора для выявления НК) внести по **50 мкл СПКО и 450 мкл ОКО**, используя наконечники с аэрозольным барьером.

В **пару** пробирок для ПКО (КО1, КО2 при необходимости) внести по **15 мкл ПКО** (КО1, КО2) и **485 мкл ОКО**, используя наконечники с аэрозольным барьером.

7.6. В остальные **пары** пробирок внести по **500 мкл исследуемых образцов**, используя наконечники с аэрозольным барьером.

7.7. Пробирки перенести в термошейкер и инкубировать при 60 °C с частотой вращения 1300 об/мин в течение 15 минут.

7.8. По окончании инкубации извлечь пробирки из термошейкера (термошейкеров), коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок и расставить пробирки в магнитный и немагнитный штативы в соответствии со схемой:

Магнитный штатив	ПКО	ОКО	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9	№10
	№11	№12	№13	№14	№15	№16	№17	№18	№19	№20	№21	№22

Штатив для пробирок (немагнитный)	ПКО	ОКО	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8	№9	№10
	№11	№12	№13	№14	№15	№16	№17	№18	№19	№20	№21	№22

7.9. Выставить температуру одного из термошейкеров 90 °C.

7.10. Пробирки в штативах выдержать **2 минуты**.

7.11. Из каждой пробирки, находящейся в **магнитном штативе**, с помощью медицинского отсасывателя максимально полно удалить надосадочную жидкость, используя отдельный наконечник (без фильтра) и **не прикасаясь к осадку магнитных частиц**.

7.12. Содержимое каждой пробирки, находящейся в **немагнитном штативе**, аккуратно

перемешать пипетированием объемом 0,8 мл и перенести в соответствующую пробирку в магнитном штативе, используя отдельный наконечник номиналом 1 мл.

Пояснение. На данной стадии протокола проводится объединение осадка магнитных частиц пробирок, находящихся в магнитном штативе, с магнитными частицами соответствующих пробирок из немагнитного штатива. На последующих стадиях процедуры выделения используются только пробирки из магнитного штатива, а пустые пробирки из немагнитного штатива утилизируются.

7.13. Пробирки в магнитном штативе выдержать 2 минуты.

7.14. Из каждой пробирки с помощью медицинского отсасывателя максимально полно удалить надосадочную жидкость, используя отдельный наконечник (без фильтра) и не прикасаясь к осадку магнитных частиц.

7.15. В каждую пробирку внести по 500 мкл раствора для отмывки № 1, перемешать на вортексе 5-10 секунд. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

7.16. Перенести пробирки в магнитный штатив и выдержать 2 минуты.

7.17. Из каждой пробирки с помощью медицинского отсасывателя максимально полно удалить надосадочную жидкость, используя отдельный наконечник (без фильтра) и не прикасаясь к осадку магнитных частиц.

7.18. В каждую пробирку внести по 1 мл раствора для отмывки № 2, перемешать на вортексе 5-10 секунд. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

7.19. Перенести пробирки в магнитный штатив и выдержать 2 минуты.

7.20. Из каждой пробирки с помощью медицинского отсасывателя максимально полно удалить надосадочную жидкость, используя отдельный наконечник (без фильтра) и не прикасаясь к осадку магнитных частиц.

7.21. Повторить процедуру отмывки раствором для отмывки № 2 с п. 7.18. по п. 7.20.

7.22. В каждую пробирку внести по 200 мкл элюирующего раствора, не задевая стенок. При касании стенки или жидкости в пробирке наконечник необходимо сменить!

7.23. Аккуратно встряхнуть пробирки до достижения содержимым состояния гомогенной суспензии (не допуская попадания капель на крышку), переместить пробирки в термошейкер и инкубировать с частотой вращения 1300 об/мин при 90 °C в течение 5 минут.

7.24. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

7.25. Перенести пробирки в магнитный штатив и выдержать 10 минут.

7.26. Образцы из пробирок, находящихся в магнитном штативе, раскатать в реакционные смеси для ПЦР- и/или ОТ-ПЦР-анализа (согласно инструкции по применению набора для выявления НК).

Внимание! Рекомендуется проводить раскапывание выделенной НК в реакционные смеси для ПЦР- и/или ОТ-ПЦР-анализа сразу после окончания процедуры пробоподготовки. При необходимости выделенную НК хранить при температуре (2-8) °С не более, чем 24 часа.

8. ВЫДЕЛЕНИЕ НК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АВТОМАТИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ KINGFISHER FLEX или REALFLY

8.1. Промаркировать 7 глубоколоночных планшетов: ГР, РО1, ЭР – по 1 планшету; ЛР, РО2 – по 2 планшета. Один комплект планшетов позволяет провести выделение НК из 96 образцов, включая контроли. При внесении реагентов и образцов ориентировать планшеты следует таким образом, чтобы лунка А1 находилась слева сверху.

Внимание! Процедура выделения НК из 1 мл образца предполагает первоначальное разделение образца на две части по 0,5 мл, при этом указанные две части одного образца проходят стадию лизиса в идентичных лунках (например, в лунках D3) двух различных планшетов ЛР. В связи с этим лизирующий раствор, а также контрольные и анализируемые образцы должны быть внесены в лунки двух планшетов ЛР (см. п. 8.7, 8.8, 8.9 и 8.10).

8.2. Составить схему размещения контрольных и исследуемых образцов в глубоколоночном планшете на трафарете (Таблица 1). Перечень и требуемое количество контрольных образцов указано в инструкции к набору для ПЦР (ОТ-ПЦР).

Таблица 1.

Пример схемы размещения контрольных и исследуемых образцов.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	ОКО	№4	№12									
B	СПКО	№5	...									
C	ПКО	№6										
D	ПКО	№7										
E	ПКО	№8										
F	№1	№9										
G	№2	№10										
H	№3	№11										

8.3. В глубоколоночный планшет ГР поместить насадку на магнитную головку.

8.4. Внести в соответствующие лунки планшетов растворы в соответствии с таблицей 2. Для внесения растворов использовать многоканальный электронный дозатор и ванночки для реагентов. Раствор для отмывки №2 и элюирующий раствор могут быть также внесены с помощью микропланшетного раскапывателя.

Таблица 2.

Раствор	Объем раствора на лунку, мкл	Маркировка планшета
Раствор для отмывки № 1	500	PO1
Раствор для отмывки № 2	1000	PO2
Раствор для отмывки № 2	1000	PO2
Элюирующий раствор	200	ЭР

8.5. Во флакон с лизирующим раствором добавить 300 мкл ВКО.

8.6. Тщательно перемешать на вортексе содержимое флакона с сорбентом и перенести все содержимое (3 мл) во флакон с лизирующим раствором с ВКО.

Внимание! Лизирующий раствор после вскрытия и добавления ВКО и сорбента хранению не подлежит.

8.7. Аккуратно перемешать флакон с лизирующим раствором с ВКО и сорбентом перемешиванием 8-10 раз, избегая образования пены и внести в лунки глубоколоночного планшета ЛР по 550 мкл лизирующего раствора с ВКО и сорбентом. Для внесения раствора использовать многоканальный электронный дозатор и ванночку для реагентов.

Внимание! В процессе розлива лизирующего раствора с ВКО и сорбентом необходимо следить, чтобы суспензия оставалась однородной. Необходимо придерживаться следующего правила: с момента последнего перемешивания лизирующего раствора с ВКО и сорбентом должно проходить не более 1 минуты; если за это время процесс розлива лизирующего раствора с ВКО и сорбентом не был завершён, следует аккуратно перемешать суспензию пипетированием, после чего продолжить розлив.

8.8. В лунки двух глубоколоночных планшетов ЛР, обозначенные в таблице 1 как «ОКО», внести по 500 мкл ОКО, используя наконечники с аэрозольным барьером.

8.9. В лунки двух глубоколоночных планшетов ЛР, обозначенные в таблице 1 как «СПКО», внести по 50 мкл СПКО и 450 мкл ОКО, используя наконечники с аэрозольным барьером.

В лунки двух глубоколоночных планшетов ЛР, обозначенные в таблице 1 как «ПКО» (КО1, КО2 при необходимости) внести по 15 мкл ПКО (КО1, КО2) и 485 мкл ОКО, используя наконечники с аэрозольным барьером.

8.10. В остальные лунки двух глубоколоночных планшетов ЛР внести по 500 мкл исследуемых образцов согласно таблице 1, используя наконечники с аэрозольным барьером.

8.11. Включить процессор «KingFisher Flex» (RealFly) и персональный компьютер, управляющий процессором.

8.12. Запустить на персональном компьютере программное обеспечение для «KingFisher Flex» («RealFly») и выбрать протокол выделения НК «РеалБест ЭкстраМаг

1000».

Подробная инструкция по запуску протокола выделения с использованием программного обеспечения приведена на сайте <https://vector-best.ru/>.

8.13. По запросу программного обеспечения процессора «KingFisher Flex» («RealFly») установить глубоколуночные планшеты в прибор: ГР, ЭР, РО2, РО2, РО1, ЛР, ЛР. После установки второго планшета ЛР запустится процесс выделения НК.

8.14. По окончании протокола выделения НК прибор подаст звуковой сигнал.

8.15. Образцы, находящиеся в глубоколуночном планшете ЭР, раскапать в реакционные смеси для ПЦР- и/или ОТ-ПЦР-анализа (согласно инструкции по применению набора для выявления НК).

Внимание! Рекомендуется проводить раскапывание выделенной НК в реакционные смеси для ПЦР- и/или ОТ-ПЦР-анализа сразу после окончания процедуры пробоподготовки. При необходимости выделенную НК хранить при температуре (2-8) °С не более, чем 24 часа.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

9.2. Хранение набора реагентов в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

9.3. При дробном использовании вскрытые компоненты набора следует хранить не более 1 месяца при температуре (2-8) °С. Допускается хранение лизирующего раствора и раствора для отмывки № 1 при температуре (18-26) °С в течение 7 суток.

9.4. Срок годности набора – 18 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

9.5. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение данной инструкции по применению набора.

9.6. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

10. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

10.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

10.3. Производитель обязуется за свой счет 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.

Инструкция по применению и паспорт размещены на сайте <http://www.vector-best.ru>.

По вопросам, касающимся качества набора «РеалБест ЭкстраМаг», следует обращаться в АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

тел. (383) 252-51-62, 227-60-30; тел./факс (383), 252-51-81, 252-51-77.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 252-51-75.

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

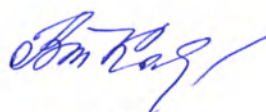
Символ	Описание	Символ	Описание
	Номер по каталогу		Осторожно!
	Содержимого достаточно для проведения n тестов		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до...		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц		

Начальник отделения
производства ПЦР-наборов
АО «Вектор-Бест»



А.В. Трухина

Директор по производству
АО «Вектор-Бест»



В.К. Ткачев

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор



Т.И. Поспелова

М.П.



Пропиновано, пронумеровано и
скреплено печатью 15 листов.

Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

 Захарова Л.Н.
"26" 02 2024 г.

