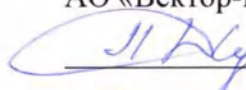


«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

 М.Д. Хусаинов

« 14 » мая 2024 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

для выделения нуклеиновых кислот из сыворотки (плазмы) крови

«РеалБест экстракция 1000»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для применения в клинической практике при диагностике различных инфекционных заболеваний человека, а также для высокочувствительного скринирования донорской крови и определения инфекционной нагрузки и оценки эффективности терапии методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени или методом обратной транскрипции с последующей полимеразной цепной реакцией (ОТ-ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

Набор реагентов «РеалБест экстракция 1000» предназначен для выделения нуклеиновых кислот из сыворотки (плазмы) крови, предусмотрено его применение с наборами для определения нуклеиновых кислот (ДНК либо РНК) возбудителей инфекций серии «РеалБест».

Набор рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 48 образцов, включая контрольные образцы. Обеспечивает возможность проведения до 8 независимых процедур выделения по 6 образцов в каждой, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип действия набора состоит в температурной обработке пробы многокомпонентным лизирующим раствором, разрушающим комплекс нуклеиновых кислот с белками, с последующим спиртовым осаждением нуклеиновых кислот на магнитные частицы, спиртовыми отмывками и последующей элюцией. После этого проба готова к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

Принцип метода основан на выделении нуклеиновых кислот из пробы совместно с предварительно внесенным внутренним контрольным образцом и проведении реакции обратной

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Икачевым В.К. и нач. отделения производства ПЦР-наборов Трухиной А.В.

транскрипции и амплификации выбранного фрагмента РНК или амплификации выбранного фрагмента ДНК с детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени.

Применённый в наборе метод дополнительного концентрирования нуклеотидного материала позволяет повысить чувствительность детекции.

Для удобства пользователя при работе с набором рекомендуется применение магнитного штатива. Возможно выделение нуклеиновых кислот из 1,0 и 0,5 мл сыворотки (плазмы) крови.

В состав ПЦР наборов серии «РеалБест» входит положительный контрольный образец (ПКО), соответствующий данному ПЦР набору. ПКО должен проходить процедуру выделения наравне с биологическими пробами и отрицательным контрольным образцом.

2.2. Состав набора:

Таблица

Компонент набора (сокращение) <i>Описание.</i>	Количество
1. Комплект реагентов для выделения НК:	
Концентрирующий раствор <i>Прозрачная бесцветная жидкость.</i>	4 флакона по 14 мл
Лизирующий раствор № 1 (ЛР 1) <i>Прозрачная бесцветная жидкость. Допускается наличие осадка, исчезающего при нагревании.</i>	4 флакона по 4 мл
Лизирующий раствор № 2 (ЛР 2) <i>Прозрачная бесцветная жидкость. Допускается наличие осадка, исчезающего при нагревании. Содержит гуанидин тиоцианат 543 г/л.</i>	8 флаконов по 4 мл
Осадитель НК <i>Прозрачная бесцветная жидкость.</i>	4 флакона по 12 мл
Раствор для отмывки № 1 <i>Прозрачная бесцветная жидкость.</i>	4 флакона по 8 мл
Раствор для отмывки № 2 <i>Прозрачная бесцветная жидкость.</i>	4 флакона по 5 мл
Элюирующий раствор <i>Прозрачная бесцветная жидкость.</i>	4 флакона по 3 мл
Сорбент (суспензия магнитных частиц) <i>Суспензия черных частиц.</i>	1 флакон, 1 мл
2. Комплект контрольных образцов:	
Раствор для восстановления контрольных образцов (РВК) <i>Прозрачная бесцветная жидкость. Содержит азид натрия (0,05%).</i>	2 флакона по 4 мл
Отрицательный контрольный образец (ОКО) <i>Жёлтая прозрачная или с лёгкой опалесценцией жидкость. Содержит азид натрия (0,05%).</i>	3 флакона по 12 мл
Внутренний контрольный образец (ВКО) <i>Лизофилизированный концентрат.</i>	2 флакона
Пластиковые крышки <i>Для флаконов с ВКО.</i>	2 шт.

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

3.1. Эффективность выделения (по РНК ВГС) – 100%.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

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

4.2. Лаборатории, выполняющие исследования по выделению и выявлению НК возбудителей инфекций человека, а также для высокочувствительного скринирования донорской крови и определения инфекционной нагрузки и оценки эффективности терапии обязаны обеспечить безопасность работы в соответствии с требованиями 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.

4.3. ЛР 2 содержит гуанидин тиоцианат, РВК и ОКО – азид натрия, в концентрациях, указанных в п. 2.2. «Состав набора».

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. Для проведения реакции амплификации с детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени необходимо использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

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

4.9. 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: 0,2% раствор «ДП-2Т»; 1-3% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 0,5-1% раствор «Мистраль»; 0,5-2% раствор «Велтолен»).

4.10. 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»).

4.11. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить 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

- ламинарный бокс 2 класса биологической защиты (бокс абактериальной воздушной среды типа БАВп-01-«Ламинар-С», фирма «Ламинарные системы», Россия или аналогичный);
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром /аэрозольным барьером/ (фирма «FinTip», Финляндия или аналогичные);
- одноразовые наконечники для дозаторов без защитного фильтра (фирма «FinTip», Финляндия или аналогичные);
- одноразовые полипропиленовые пробирки на 2,0 мл (фирма «SSI», США, кат. № 2340 или аналогичные);
- магнитный штатив (АО «Вектор-Бест», кат. № E9291, Россия или аналогичный);
- штатив для пробирок на 2,0 мл (фирма «SSI», США или аналогичный);
- термощейкер – термостатируемый встряхиватель орбитального типа, позволяющий проводить встряхивание при 1300 об/мин и температуре 56 °C («Thermo Shaker TS-100» [с блоком для пробирок объемом 2,0 мл], фирма «BioSan», Латвия или аналогичный);
- встряхиватель для пробирок типа «Вортекс» («Bio-Vortex V-1 plus», фирма «BioSan», Латвия или аналогичный);
- дозаторы полуавтоматические (дозаторы механические) одноканальные с переменным или фиксированным объемом, со сменными наконечниками, (фирма «Biohit», Финляндия или аналогичные);
- микроцентрифуга типа «Eppendorf MiniSpin» (фирма «Eppendorf», Германия);
- контейнер с дезинфицирующим раствором («Контейнер для сбора острого инструментария – ЕК-01», фирма «КМ-Проект», Россия или аналогичный);
- отсасыватель медицинский В-40 (фирма «ВИСМА-ПЛАНАР», Россия или аналогичный);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (перчатки «NeoTouch», фирма «Ansell HealthCare», Германия или аналогичные).

6. ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

6.1. Подготовка образцов сыворотки (плазмы) крови

Для проведения анализа требуется 1,0 мл (допускается выделение из 0,5 мл) сыворотки (плазмы) крови.

В течение 6 часов после взятия крови следует отобрать сыворотку (плазму) в отдельную пробирку. Транспортировать и хранить образцы при температуре (18-25) °С до 2 часов; при температуре (2-8) °С не более суток; при температуре минус 20 °С до 2 недель.

Образцы сывороток или плазмы крови перед использованием необходимо центрифугировать при 13000 об/мин при температуре (18-25) °С в течение 5 минут.

Внимание! Не допускается применение для анализа образцов гепаринизированной плазмы.

6.2. Подготовка компонентов набора:

6.2.1. Перед началом работы извлечь набор реагентов из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать анализируемые образцы и компоненты набора при температуре (18-25) °С в течение 30 минут.

6.2.2. Извлечь из набора для ПЦР серии «РеалБест» флакон с ПКО, соответствующий данному ПЦР набору.

6.2.3. Вскрыть флакон с внутренним контрольным образцом (ВКО), удалив пластиковую крышку и резиновую пробку. Снятые крышку и пробку поместить в контейнер с дезинфицирующим раствором. Добавить 1,0 мл раствора для восстановления контрольных образцов (РВК), закрыть новой крышкой, аккуратно перемешать, выдержать 15 минут при температуре (18-25) °С, после чего вновь тщательно перемешать. После разведения хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца.

6.2.4. Отрицательный контрольный образец (ОКО) готов к применению. После вскрытия флакона хранить при температуре (2-8) °С не более 1 месяца.

6.2.5. Флаконы с ЛР 1 и ЛР 2 перед началом работы прогреть при температуре (50-60) °С до растворения осадка. Перемешать на вортексе содержимое флакона с сорбентом до состояния гомогенной суспензии и во флакон с лизирующим раствором № 2 добавить 80 мкл суспензии сорбента. Тщательно перемешать.

Внимание! Лизирующий раствор № 2 после вскрытия и добавления суспензии сорбента, хранению не подлежит.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Отобрать и подписать необходимое для работы количество пробирок объемом 2 мл (по количеству исследуемых образцов, включая необходимые контроли).

7.2. В каждую пробирку внести по 30 мкл раствора ВКО.

7.3. Для отрицательного контроля в пробирку, маркированную «ОКО», внести 1,0 мл ОКО.

7.4. Для положительного контроля в пробирку (пробирки), маркированную «ПКО», внести **970 мкл ОКО и 30 мкл ПКО**.

7.5. В остальные пробирки внести по **1,0 мл исследуемых образцов**.

Если объем исследуемого образца меньше 1,0 мл, допускается выделение НК из 0,5 мл сыворотки (плазмы) крови.

7.6. В каждую пробирку, не задевая стенок, внести по **1,0 мл концентрирующего раствора**.

Если объем исследуемого образца 0,5 мл, внести в пробирку 0,5 мл концентрирующего раствора.

7.7. Пробирки закрыть крышками, содержимое пробирок тщательно перемешать переворачиванием 5 раз и выдержать в течение 10-15 минут при комнатной температуре. Затем центрифугировать при 3000 об/мин при температуре (18-25) °С в течение 5 минут.

7.8. Из каждой пробирки с помощью медицинского отсасывателя максимально полно удалить надосадочную жидкость.

7.9. В каждую пробирку к полученному осадку добавить по **200 мкл лизирующего раствора № 1**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 секунд, чтобы осадок отслоился от дна пробирки. Выдержать 5 минут при температуре (18-25) °С. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирки.

7.10. В каждую пробирку с лизирующим раствором № 1 добавить по **500 мкл лизирующего раствора № 2 с сорбентом**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 секунд. Выдержать в термошейкере при температуре 56 °С с частотой вращения 1300 об/мин в течение 10 минут. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

7.11. В каждую пробирку с анализируемыми образцами внести по **750 мкл осадителя НК**.

7.12. Перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 секунд. Оставить на 3-5 минут при температуре (18-25) °С. Центрифугировать при 13000 об/мин в течение 5 минут.

7.13. Не взбалтывая осадок, установить пробирки в магнитный штатив. Из каждой пробирки с помощью медицинского отсасывателя отобрать надосадочную жидкость, не задевая осадок.

7.14. В каждую пробирку к осадку добавить по **500 мкл раствора для отмывки № 1**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 секунд. Центрифугировать 5 минут при 13000 об/мин на микроцентрифуге.

7.15. Не взбалтывая осадок, установить пробирки в магнитный штатив. Из каждой пробирки отобрать надосадочную жидкость с помощью медицинского отсасывателя, не задевая осадок.

7.16. В каждую пробирку к осадку добавить по **300 мкл раствора для отмывки № 2**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 секунд. Центрифугировать 5 минут при 13000 об/мин на микроцентрифуге.

7.17. Не взбалтывая осадок, установить пробирки в магнитный штатив. Из каждой пробирки отобрать надосадочную жидкость с помощью медицинского отсасывателя, не задевая осадок.

7.18. Высушить осадки в открытых пробирках при температуре (18-25) °С в течение 2-3 минут.

7.19. В каждую пробирку к осадку добавить по 200 мкл элюирующего раствора. Тщательно ресуспендировать осадок на вортексе. Инкубировать в термошейкере при температуре 56 °С с частотой вращения 1300 об/мин в течение 10 минут. Центрифугировать на микроцентрифуге 1 минуту при 13000 об/мин. Пробы готовы к постановке ПЦР или ОТ-ПЦР-анализа.

Внимание! Выделенная НК хранению не подлежит. Готовить в день проведения ПЦР (ОТ-ПЦР).

8. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

8.1. 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 25 °С не более 10 суток.

8.2. Хранение набора 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.

8.3. Запрещается использовать компоненты из наборов разных серий.

8.4. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

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

9. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

9.3. 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.

По вопросам, касающимся качества набора «РеалБест экстракция 1000», 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

ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

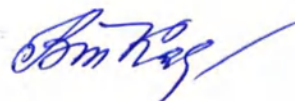
Символ	Описание	Символ	Описание
	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Содержимого достаточно для проведения < n > тестов		Температурный диапазон
	Код партии		Дата изготовления
	Изготовитель		Обратитесь к инструкции по применению или инструкции по применению в электронном виде
	Использовать до	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

Всего прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 8 листов.

Директор по технологии и качеству
АО «Вектор-Бест»



Масяго А.В. Масяго А.В.
06 20 24 г.