

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «ПАРСЕК ЛАБ»

Меркулов И.А.

«30» октября 2024 г.



Инструкция по применению медицинского изделия для
диагностики *in vitro* Набор реагентов
«**PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE**»
для выделения ДНК и РНК из образцов тканей FFPE
методом сорбции на магнитных частицах
по ТУ 21.20.23-028-39429653-2023

Символы

	Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Изготовитель
	Дата изготовления
	Код партии
	Номер по каталогу
	Использовать до
	Температурный диапазон
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Осторожно
	Символ наличия дополнительной информации о безопасности в соответствующем разделе инструкции по применению
	Символ опасности коррозионного воздействия
	Символ опасности для здоровья человека
	Символ «Коробка» для обозначения упаковки в составе изделия

КАТАЛОЖНЫЙ НОМЕР

PC-DMDR-50-IVD

Набор реагентов PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE, 50 реакций

СОКРАЩЕНИЕ

Набор реагентов либо **Набор реагентов «PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE»** - Набор реагентов «PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE» для выделения ДНК и РНК из образцов тканей FFPE методом сорбции на магнитных частицах по ТУ 21.20.23-028-39429653-2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. НАЗНАЧЕНИЕ	5
2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ	5
3. ОПИСАНИЕ ЦЕЛЕВОГО АНАЛИТА, СВЕДЕНИЯ О ЕГО НАУЧНОЙ ОБОСНОВАННОСТИ	5
4. ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ	6
5. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ.....	6
6. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ.....	6
7. СОСТАВ И КОМПЛЕКТНОСТЬ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	7
8. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	8
9. ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА	9
10. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИЗДЕЛИЯ	10
11. РИСКИ, СВЯЗАННЫЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИЗДЕЛИЯ.....	10
12. МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ.....	10
13. УКАЗАНИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ	13
14. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ.....	14
15. ТРЕБОВАНИЯ К ОБРАЗЦУ	14
16. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ	15
17. ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК И РНК ИЗ FFPE СРЕЗОВ	15
Выделение нуклеиновых фракций	15
Сорбция и очистка РНК	16
Сорбция и очистка ДНК.....	17
18. РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМ	18
19. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ	18
Транспортирование	18
Хранение	19
20. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ.....	19
21. СРОК ГОДНОСТИ	20
22. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА.....	20
23. КОНТАКТЫ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	20

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «**PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE**» для выделения ДНК и РНК из образцов тканей FFPE методом сорбции на магнитных частицах по ТУ 21.20.23-028-39429653-2023 предназначен для последовательного раздельного выделения геномной ДНК и тотальной РНК из фиксированной в формалине и заключенной в парафин (FFPE) ткани методом сорбции на магнитных частицах для последующего проведения анализов в клинической лабораторной диагностике методом секвенирования нового поколения.

Функциональное назначение:

Набор реагентов «**PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE**» является вспомогательным средством в диагностике.

Популяционные и демографические аспекты применения:

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

2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Набор реагентов «**PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE**» предназначен для клинической лабораторной диагностики *in vitro*.

3. ОПИСАНИЕ ЦЕЛЕВОГО АНАЛИТА, СВЕДЕНИЯ О ЕГО НАУЧНОЙ ОБОСНОВАННОСТИ

Фиксация ткани в формалине, проводка и заключение в парафин для последующего изготовления препаратов – общепринятый способ подготовки образцов к гистологическому исследованию. Этот подход позволяет сохранить структуру тканей и хранить материал в течение длительного времени. Архивы, в которых хранятся образцы ткани в виде парафиновых блоков, служат незаменимым источником материала для масштабных ретроспективных исследований, включая исследования с использованием методик, не доступных на момент помещения блока в архив. Сегодня, когда появляется все больше сведений о молекулярных основах патогенеза различных заболеваний, исследование ДНК и РНК, содержащихся в гистологическом материале, необходимо для научных исследований и становится частью рутинной диагностической практики.

Фиксация ткани и ее хранение в виде парафинового блока – традиционный и рациональный способ работы с гистологическим материалом. Нуклеиновые кислоты, выделенные с соблюдением требуемых условий из ткани, заключенной в парафиновый блок, могут быть использованы для ПЦР и ОТ-ПЦР, секвенирования, исследования на микрочипах и других молекулярно-биологических методик¹.

¹ Ваганова А.Н. Гистотехнические решения для повышения качества препаратов нуклеиновых кислот, выделенных из парафиновых блоков / А.Н. Ваганова // Гены и клетки. - 2014. - Т. 9, №2. - С.96-101.

4. ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Показания к применению: использование на преаналитическом этапе анализа для экстракции геномной ДНК и тотальной РНК из биологического материала человека (фиксированная в формалине и заключенная в парафин (FFPE) ткань) для последующего проведения анализов в клинической лабораторной диагностике методом секвенирования нового поколения.

Противопоказания к применению: Набор реагентов не имеет противопоказаний к применению в рамках назначения, установленного производителем.

5. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ

Набор реагентов предназначен только для профессионального применения. Исследования с использованием Набора реагентов могут выполнять специалисты с высшим медицинским, биологическим или биотехнологическим образованием: биолог, молекулярный биолог, биотехнолог, инженер-технолог, медицинский лабораторный техник, лаборант, врач клинической лабораторной диагностики.

Персонал, проводящий исследования с использованием Набора реагентов, должен владеть навыками проведения молекулярно-биологических исследований.

6. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Набор реагентов «PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE» используется для последовательного выделения геномной ДНК и тотальной РНК из образца ткани FFPE в отдельных элюатах. Выделение ДНК и РНК из одного образца дает возможность проводить комплексный анализ нуклеиновых кислот. В Наборе реагентов используется специально разработанная буферная система, позволяющая частично обратить изменения в виде сшивок между нуклеиновыми кислотами и белками, вызванных формальдегидом, а также обеспечить независимое выделение ДНК и РНК. Набор также можно использовать для выделения из образцов FFPE только ДНК, либо только РНК.

В Наборе реагентов для эффективной депарафинизации образца FFPE используется нетоксичный Депарафинизирующий буфер в сочетании с температурной инкубацией, что позволяет исключить использование ксилола. После депарафинизации образцы ткани лизируют в Лизирующем буфере в присутствии Протеиназы К. Затем лизат нагревают для денатурации протеиназы и обращения химических сшивок нуклеиновых кислот. После нагревания лизат смешивают со Связывающим буфером и Магнитными частицами А для сорбции ДНК. РНК-содержащий супернатант отбирается в отдельную пробирку для дальнейшего связывания РНК с Магнитными частицами Б в присутствии изопропилового спирта. Обе нуклеиновые фракции далее независимо промываются для элюции нуклеиновых кислот в две разные пробирки.

Схема исполнения протокола



7. СОСТАВ И КОМПЛЕКТНОСТЬ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов «PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE» выпускается в одном варианте исполнения.

Состав:

Компонент	Цвет	Объем	Количество	Внешний вид	Хранение
Общая упаковка набора					от 15 до 25°C
Депарафинизирующий буфер (ДБ)	синий	40 мл	1 флакон	Бесцветная жидкость	
Лизирующий буфер (ЛБ)	зеленый	9,5 мл	1 флакон	Бесцветная жидкость	
Связывающий буфер (СБ)	красный	19 мл	1 флакон	Бесцветная жидкость	
Промывочный буфер (ПБ)	оранжевый	26,5 мл	1 флакон	Бесцветная жидкость	
Вода без нуклеаз (В)	желтый	7 мл	1 флакон	Бесцветная жидкость	
Упаковка с температурным режимом хранения +2...+8°C					от 2 до 8°C
Протеиназа К (ПК)	зеленый	1,2 мл	1 пробирка	Бесцветная жидкость	
Магнитные частицы А (МА)	красный	1,2 мл	1 пробирка	Жидкость темно-оранжевого цвета (или прозрачная жидкость с темно-оранжевым осадком)	
Магнитные частицы Б (МБ)	фиолетовый	1,2 мл	1 пробирка	Жидкость коричневого цвета (или прозрачная жидкость с коричневым осадком)	

Депарафинизирующий буфер (ДБ) готов к использованию. Буфер содержит н-гексадекан, позволяющий растворить парафин.

Лизирующий буфер (ЛБ) готов к использованию. Буфер содержит анионный детергент, способствующий клеточному лизису.

Связывающий буфер (СБ) готов к использованию. Буфер содержит хаотропную соль гуанидина тиоцианат для разрушения ассоциации нуклеиновых кислот с водой и связывания с магнитными частицами, а также неионный детергент Triton X-100 для денатурации белков.

Промывочный буфер (ПБ). Внимание! Перед началом работы требуется разбавить буфер этанолом (см. Раздел 15). Буфер служит для первичной промывки лизата с целью удаления остаточного белка. В состав буфера входит гуанидина гидрохлорид.

Вода без нуклеаз (В) готова к использованию. Представляет собой воду I типа без содержания нуклеаз, необходима для элюции нуклеиновых кислот после промывок.

Протеиназа К (ПК) готова к использованию. Представляет собой протеолитический белок протеиназу К в буфере для хранения, необходимую для расщепления белков на этапе клеточного лизиса.

Магнитные частицы А (МА) готовы к использованию. Представляют собой покрытые двуокисью кремния магнитные частицы с иммобилизованными лигандами для сродства к ДНК.

Магнитные частицы Б (МБ) готовы к использованию. Представляют собой покрытые двуокисью кремния магнитные частицы с иммобилизованными лигандами для сродства к РНК.

Набор реагентов рассчитан на выделение ДНК и РНК из 50 образцов.

ВНИМАНИЕ! Набор реагентов допускает возможность дробного использования компонентов.

В Наборе реагентов не используются калибраторы и контрольные материалы.

Комплектность:

- Набор реагентов «PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE» - 1 шт.
- Инструкция по применению – прикладывается к поставке медицинского изделия вне зависимости от количества изделий в поставке – 1 шт.

Электронная версия инструкции по применению - <https://parseq.pro>.

- Паспорт – прикладывается к поставке медицинского изделия вне зависимости от количества изделий в поставке – 1 шт.

8. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Эффективность выделения (концентрация препаратов НК при выделении с помощью Набора реагентов):

Препарат	Значение
ДНК	> 10 нг/мкл
РНК	> 10 нг/мкл

Чистота выделения (отношение поглощения длин волн 260 нм и 280 нм (отношение $A_{260/280}$) при выделении с помощью Набора реагентов):

Препарат	Значение
ДНК	1,7-2,2
РНК	1,7-2,2

9. ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА

Производителем проведена оценка влияния потенциально интерферирующих веществ при работе с МИ.

Потенциальные интерференты	
Некротическая ткань	
Источник интерферента	Биоматериал (образец ткани FFPE)
Стадия проявления потенциального интерферента	Анализ данных
Последствия и рекомендуемые меры: Наличие некротической ткани в исследуемом образце потенциально может повлиять на соотношение пригодных к исследованию клеток к общему количеству клеток в образце. Тем не менее по данным литературы нет доказательств того, что некротическая ткань в регионе интереса образца ткани FFPE может интерферировать данные секвенирования образцов FFPE. Пользователям следует проводить макродиссекцию (обогащение интересующей ткани путем исключения нежелательной ткани) некротических областей или выбирать альтернативный образец для последующего анализа, если это возможно. Определено, что 60% содержание некротической ткани в образце FFPE не влияет ни на эффективность выделения ДНК и РНК из FFPE, ни на метрики качества образца при секвенировании и установление генотипа.	
Этанол	
Источник интерферента	Промывочные буферы для выделения ДНК и РНК из FFPE
Стадия проявления потенциального интерферента	ПЦР/ОТ-ПЦР
Последствия и рекомендуемые меры: Предельно допустимая концентрация этанола в образце составляет 1% в реакциях ПЦР/ОТ-ПЦР.. Превышение ПДК приводит к ингибированию работы ферментов нуклеинового обмена. Этанол используется в наборе для выделения ДНК и РНК для промывки образца в процессе выделения. Несоблюдение инструкции по выделению и недостаточная просушка магнитных частиц при выделении будет приводить к появлению этанола в препаратах ДНК и РНК и, как следствие, ингибированию ПЦР при пробоподготовке. Требуется точное соблюдение инструкций производителя Набора реагентов для выделения.	
Парафин	
Источник интерферента	Биоматериал (образец ткани FFPE)
Стадия проявления потенциального интерферента	ПЦР/ОТ-ПЦР
Последствия и рекомендуемые меры: Парафин – специализированный расходный материал для гистологии, представляет собой высокоочищенную, гомогенизированную смесь тугоплавких парафинов и пластификаторов, предназначен для гистологической проводки и заливки тканевых образцов. Удаление парафина из образца ткани является одним из определяющих шагов эффективной экстракции, поскольку нерастворенный парафин приводит к ухудшению качества образца и снижению его чистоты из-за неэффективных промывок.	

Определено, что 4-кратное увеличение содержания парафина от рекомендуемого при выделении ДНК и РНК из FFPE не приводит к ухудшению качества образца и снижению его чистоты.

Протеиназа К

Источник интерферента

Биоматериал (образец ткани FFPE)

Стадия проявления
потенциального интерферента

ПЦР/ОТ-ПЦР

Последствия и рекомендуемые меры:

В случае превышения рекомендуемой рабочей концентрации Протеиназы К в растворе с выделенной нуклеиновой кислотой, существует риск того, что она будет способна расщепить фермент, необходимый для осуществления ПЦР/ОТ-ПЦР.

Определено, что 4-кратное увеличение содержания Протеиназы К (80 мкл) от рекомендуемого при выделении ДНК и РНК из FFPE не приводит к ингибированию ПЦР/ОТ-ПЦР.

Гемоглобин

Источник интерферента

Биоматериал (образец ткани FFPE)

Стадия проявления
потенциального интерферента

ПЦР/ОТ-ПЦР

Последствия и рекомендуемые меры:

Гемоглобин является одним из основных ингибиторов ПЦР. Механизм ингибирования может быть связан со способностью гемоглобина освобождать ионы железа в ПЦР смесь.

Содержание гемоглобина не должно превышать 2 мг/мл в реакции ПЦР. Более высокие концентрации способны ингибировать полимеразу.

10. КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИЗДЕЛИЯ

По результатам проведенных клиничко-лабораторных испытаний подтверждена эффективность медицинского изделия, которая составила 100% (200/200, 95% ДИ: 98,12% – 100%) при использовании образцов выделенной геномной ДНК и тотальной РНК из 200 образцов фиксированной в формалине и заключенной в парафин (FFPE-блоков) ткани легкого человека.

11. РИСКИ, СВЯЗАННЫЕ С ПРИМЕНЕНИЕМ ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов «PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE» признан безопасным для пациента, эксплуатирующего персонала, производящего персонала, третьих лиц и окружающей среды. Все остаточные риски являются приемлемыми.

12. МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

- Использовать только для диагностики *in vitro*.
- Потенциальный риск применения Набора реагентов – класс 2а.
- Набор предназначен только для профессионального применения.
- Набор реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять Набор реагентов строго в соответствии с назначением, установленным производителем.
- При работе с образцами биоматериала необходимо руководствоваться МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации

изделий медицинского назначения» и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» и соблюдать санитарно-эпидемиологические правила СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

- Лабораторный процесс должен быть односторонним.
- Работа с Набором реагентов должна выполняться в пре-ПЦР зоне.
- Лабораторное оборудование и принадлежности, которые используются при работе с Набором реагентов, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических или механических дозаторов с фильтром. Одноразовые пластиковые материалы (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор. Ламинат, в котором проводится экстракция нуклеиновых кислот, после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.

- Использовать одноразовые неопудренные медицинские перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Набор реагентов предназначен только для профессионального применения. Исследования с использованием Набора реагентов могут выполнять специалисты с высшим или среднеспециальным медицинским, биологическим или биотехнологическим образованием: биолог, молекулярный биолог, биотехнолог, инженер-технолог, медицинский лабораторный техник, лаборант, врач клинической лабораторной диагностики.

- Персонал, проводящий исследования с использованием Набора реагентов, должен владеть навыками проведения выделения НК.

- Не использовать Набор реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

- Не использовать Набор реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно пользовательской инструкции.

- Не использовать Набор реагентов по истечении срока годности.

- Депарафинизирующий буфер (ДБ), Связывающий буфер (СБ), Промывочный буфер (ПБ) и Протеиназа К (ПК) классифицируются как опасные компоненты. Вещества, повлиявшие на классификацию, а также коды заявлений об опасности и мер предосторожности, требуемые при работе с данными компонентами, приведены ниже:

Компонент	Опасные вещества	Код заявления об опасности	Код меры предосторожности
Депарафинизирующий буфер (ДБ)	н-Гексадекан	H304	P280; P301 + P310; P331; P405
Связывающий буфер (СБ)	Гуанидин тиоционат,	H302 H314	P260; P264; P270; P280; P301 + P312 + P331; P303 +

	Тритон X-100		P361 + P353; P363; P304 + P340; P305 + P351 + P338; P310; P405
Промывочный буфер (ПБ)	Гуанидин гидрохлорид	H302 H315 H319 H332	P261; P264; P270; P271; P280; P301 + P312; P302 + P352; P305 + P351 + P338; P337 + P313; P332 + P313; P304 + P340; P330; P362 + P364
Протеиназа К (ПК)	Протеиназа К	H317 H334	P261; P272; P280; P284; P302 + P352; P304 + P340; P333 + P313; P342 + P311; P362 + P364

Заявления об опасности

H302: Вредно при проглатывании	H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию
H304: Может быть смертельным при проглатывании и последующем попадании в дыхательные пути	H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение
H314: При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги	H332: Вредно при вдыхании
H315: При попадании на кожу вызывает раздражение	H334: При вдыхании может вызывать аллергическую реакцию (астму или затрудненное дыхание)

Меры предосторожности

P280: Использовать перчатки/ спецодежду/ средства защиты глаз/ лица	P301 + P310: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: немедленно обратиться за медицинской помощью
P331: Не вызывать рвоту!	P405: Хранить в недоступном для посторонних месте
P260: Не вдыхать газ/пары/аэрозоли	P264: После работы тщательно вымыть руки/лицо
P270: При использовании продукции не курить, не пить, не принимать пищу	P301 + P312 + P331: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: прополоскать рот. Не вызывать рвоту!
P303 + P361 + P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Кожу промыть водой	P363: Перед повторным использованием выстирать загрязненную одежду
P304 + P340: ПРИ ВДЫХАНИИ: свежий воздух, покой	P305 + P351 + P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если Вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз
P310: Немедленно обратиться за медицинской помощью	P272: Не уносить загрязненную спецодежду с места работы
P261: Избегать вдыхания газа/пара/аэрозолей	P271: Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении
P301 + P312: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью	P302 + P352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: промыть большим количеством воды

P337 + P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской помощью	P332 + P313: При возникновении раздражения кожи обратиться за медицинской помощью
P330: Прополоскать рот	P362 + P364: Снять всю загрязненную одежду и выстирать перед повторным использованием
P333 + P313: При возникновении раздражения или покраснения кожи обратиться за медицинской помощью	P284: При недостаточной вентиляции использовать средства защиты органов дыхания
P342 + P311: При возникновении симптомов астмы или затрудненного дыхания обратиться за медицинской помощью	-

- При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.
- Набор реагентов не содержит: лекарственные средства для медицинского применения, материалы животного и (или) человеческого происхождения.
- Воздействие на функционирование внешних факторов в диапазоне их возможного изменения при применении Набора реагентов в медицинских учреждениях – не существенно, включая электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температуру воздуха.
- Применение Набора реагентов не требует специальных мер безопасности при воздействии таких предсказуемых факторов, как внешние электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температура воздуха.
- Применение Набора реагентов не требует специальных мер безопасности относительно риска электромагнитных помех, поскольку в состав материала не входят и в результате применения не появляются какие-либо источники излучения.

13. УКАЗАНИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ

- Набор реагентов **«PureCode™ DNA/RNA Double Magnetic FFPE»** должен применяться в строгом соответствии с данной инструкцией по применению.
- Неправильное обращение с исследуемыми образцами и изменение процедуры проведения анализа могут повлиять на результаты. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение данной инструкции по применению.
- Набор реагентов не имеет принадлежностей и/или медицинских изделий или изделий, не являющихся медицинскими, предусмотренными для использования в комбинации с Набором реагентов.
- Набор реагентов не подлежит установке, монтажу, настройке, калибровке, техническому обслуживанию и ремонту.
- Набор реагентов не имеет предыдущих модификаций, находящихся в обращении.
- Набор реагентов является нестерильным и не требует стерилизации перед использованием.
- Условия эксплуатации Набора реагентов²:

² Атмосферное давление не оказывает влияния на работу Набора реагентов.

- температура окружающей среды (15 – 35) °C;
- относительная влажность воздуха – не более 95 %.

14. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАГЕНТЫ

Материалы и оборудование, необходимые для постановки протокола и не входящие в состав набора реагентов:

Описание ³	Пример оборудования/материала/реагента
Бокс абактериальной воздушной среды	ЗАО "Ламинарные системы", Россия, РУ № ФСР 2010/07113 от 06.05.2022
Настольная микроцентрифуга с ускорением до 14000 g с ротором под пробирки 1,5–2 мл	"Эппендорф Мануфэктуринг Корпорэйшн", США, РУ № ФСЗ 2012/13316 от 05.12.2012
Твердотельный термостат для пробирок объемом 2 мл с температурой 56°C и 90°C с обеспечением полного контакта пробирки с термоэлементом	ООО "НПО ДНК-Технология", Россия, РУ № ФСР 2012/13646 от 29.06.2012
Шейкер, вортекс или ротатор с платформой для пробирок 1,5–2 мл и предельной скоростью вращения более 2500 об/мин	"Эппендорф АГ", Германия, РУ № ФСЗ 2009/04410 от 03.06.2009
Магнитный штатив под пробирки 2 мл	ООО "НПФ Хеликон", Россия, РУ № РЗН 2022/16360 от 21.01.2022
Центрифуга/вортекс с максимальной скоростью вращения 2400 об/мин	Biosan, Латвия, FV-2400
Дозаторы пипеточные переменного объема: 0,5-10 мкл; 2-20 мкл, 10-100 мкл; 20-200 мкл; 100-1000 мкл,	"Эппендорф АГ", Германия, РУ № ФСЗ 2011/11028 от 15.11.2011
Наконечники с фильтром в штативах для дозаторов объемом до 10 мкл, 20 мкл, 100 мкл, 300 мкл, 1000 мкл	"Сайентифик Спешиалтис Инкорпорэйтед (ЭсЭсАй)", США, РУ № ФСЗ 2011/10287 от 11.04.2017
Пробирки DNA LoBind™ объемом 1,5 мл	"Эппендорф АГ", Германия, РУ № ФСЗ 2009/04520 от 19.06.2009
Пробирки DNA LoBind™ объемом 2 мл	"Эппендорф АГ", Германия, РУ № ФСЗ 2009/04520 от 19.06.2009
Этанол, медицинский	АО «РФК»
Изопропанол не менее 99,8%, ОСЧ	Химмед
Перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные	«ТГ Медикал Сдн. Бхд.», Малайзия, РУ № РЗН 2017/5747 от 26.10.2023

15. ТРЕБОВАНИЯ К ОБРАЗЦУ

Стандартные процедуры фиксации в формалине и заключения в парафин приводят к значительной фрагментации нуклеиновых кислот.

³ Указанное оборудование использовалось для проведения клинико-лабораторных испытаний изделия, допускается применение оборудования другого типа, по своим характеристикам не уступающего рекомендуемому.

Рекомендуется придерживаться следующих правил для минимизации степени фрагментации нуклеиновых кислот в образце:

- 1) Использование нейтрального 10% формалина для фиксации образцов тканей;
- 2) Ограничение времени фиксации до 24–48 часов (в зависимости от размера ткани);
- 3) Полная дегидратация образцов перед заключением в парафин.

Внимание! Рекомендуется следовать Стандартным технологическим процедурам при проведении патологоанатомических исследований. Клинические рекомендации Российского Общества Патологоанатомов от 2016 г.

Рекомендуется использовать 2–3 среза FFPE блока толщиной 5–10 мкм. В зависимости от полученного выхода и чистоты можно варьировать количество исходного материала. Рекомендуется использовать свежие срезы FFPE блока.

16. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ

16.1. Перед началом работы внимательно ознакомьтесь с инструкцией по применению.

16.2. Добавьте 33,5 мл **95% этанола** (не входит в состав Набора реагентов) к **Промывочному буферу (ПБ)** и нанесите отметку о выполненной операции на этикетку.

17. ПРОТОКОЛ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК И РНК ИЗ FFPE СРЕЗОВ

Перед началом работы:

- Подготовьте твердотельный термостат с температурой 56°C.
- Подготовьте твердотельный термостат с температурой 90°C (возможно использование одного нагревательного блока с последующим переключением температуры).
- Разбавьте **ПБ** этанолом согласно разделу ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ.
- Достаньте Магнитные частицы А и Магнитные частицы Б за 30 минут до начала работы для достижения ими комнатной температуры.
- Подготовьте **свежий** 75% этанол из расчета 2000 мкл на один образец при выделении ДНК и РНК.
- Подготовьте изопропанол.

Выделение нуклеиновых фракций

1. В 1,5-2 мл пробирку (не включены в набор) внесите 2–3 среза FFPE блока толщиной 5–10 мкм.
2. Добавьте к образцу **600 мкл Депарафинизирующего буфера (ДБ)** . Закройте крышку, промаркируйте пробирку с образцом, вортиксируйте, центрифугируйте для сброса капель. Убедитесь, что срезы полностью погружены в буферный раствор.
3. Инкубируйте образец в термоблоке при температуре 56°C в течение 5 минут. Вортиксируйте.
Если в образце слишком много парафина, **ДБ** может стать воскообразным или твердым после охлаждения. В этом случае рекомендуется повторить инкубацию при 56°C.
4. Центрифугируйте образец при 14 000 g в течение 2 минут. Аккуратно отберите и сбросьте весь супернатант, не забирая в наконечник ткань (осадок ткани).
5. Внесите **150 мкл Лизирующего буфера (ЛБ)**  и **20 мкл Протеиназы К (ПК)**  в пробирку с осадком.

6. Вortexируйте и центрифугируйте образец для сброса капель.
7. Инкубируйте образец в твердотельном термостате при температуре **56°C в течение 1 часа**. При необходимости образец можно оставить в термостате на ночь. Вortexируйте, центрифугируйте для сброса капель.
8. Инкубируйте образец в твердотельном термостате при температуре **90°C в течение 1 часа**.
Инкубация при 90°C в **ЛБ** частично устраняет формальдегидную модификацию нуклеиновых кислот. Более длительное время или более высокие температуры инкубации могут привести к большей фрагментации ДНК. Если используется только один нагревательный блок, следует оставить образец при комнатной температуре после инкубации при 56°C до тех пор, пока нагревательный блок не достигнет 90°C.
9. Центрифугируйте образец для сброса капель.
10. Тщательно vortexируйте **Магнитные частицы А (МА)** перед использованием.
11. Добавьте к образцу **300 мкл Связывающего буфера (СБ)** и **20 мкл Магнитных частиц А (МА)**.
12. Тщательно vortexируйте образец. Инкубируйте 5 минут при температуре от 15 до 35°C, периодически vortexируя. При использовании высокоскоростного шейкера vortexируйте/шейкируйте образец непрерывно на приборе в течение 5 минут.
13. Центрифугируйте образец для сброса капель.
14. Поместите пробирку на магнитный штатив, выдержите до восстановления полной прозрачности раствора и формирования осадка частиц.
15. Отберите супернатант (~500 мкл) и перенесите в новую **1,5-2 мл пробирку**. **Супернатант далее будет использоваться для выделения РНК. Внимание:** следует хранить ДНК-содержащие Магнитные частицы А при температуре от 15 до 35°C до начала выполнения этапа выделения ДНК.
16. Если выделение РНК не требуется, то супернатант из пункта 15 утилизируйте и перейдите к разделу «Сорбция и очистка ДНК».

Сорбция и очистка РНК

17. Тщательно vortexируйте **Магнитные частицы Б (МБ)** перед использованием.
18. Добавьте **300 мкл 100% изопропанола** и **20 мкл Магнитных частиц Б (МБ)** к ~500 мкл супернатанта, полученного в ходе выполнения пункта 15 раздела Выделение нуклеиновых фракций.
19. Тщательно vortexируйте образец. Инкубируйте 5 минут при температуре от 15 до 35°C, периодически vortexируя. При использовании высокоскоростного шейкера vortexируйте/шейкируйте образец непрерывно в течение 5 минут.
20. Центрифугируйте образец для сброса капель.
21. Поместите пробирку на магнитный штатив, выдержите до восстановления полной прозрачности раствора и формирования осадка частиц.
22. Отберите и сбросьте супернатант (~800 мкл), не задевая осадок магнитных частиц.
23. Добавьте к осадку **500 мкл Промывочного буфера (ПБ)**. **Внимание:** перед использованием **ПБ** необходимо разбавить 95% этанолом согласно разделу ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ.
24. Снимите пробирку с магнитного штатива, vortexируйте в течение 10 секунд.
25. Центрифугируйте образец для сброса капель.

26. Поместите пробирку на магнитный штатив, выдержите до восстановления полной прозрачности раствора и формирования осадка частиц.
27. Отберите и сбросьте супернатант, не задевая осадок магнитных частиц.
28. Добавьте к осадку **500 мкл 75% этанола**.
29. Снимите пробирку с магнитного штатива, вортексируйте в течение 10 секунд.
30. Центрифугируйте образец для сброса капель.
31. Поместите пробирку на магнитный штатив, выдержите до восстановления полной прозрачности раствора и формирования осадка частиц.
32. Отберите и сбросьте супернатант, не задевая осадок магнитных частиц.
33. Повторите этапы 28–32 для повторной промывки **75% этанолом**.
34. Центрифугируйте образец в импульсном режиме для сбора капель на дне пробирки. Поместите пробирку на магнитный штатив, дождитесь формирования осадка частиц на стенке пробирки, удалите остаточные капли этанола. Оставьте крышку пробирки открытой и высушите осадок магнитных частиц, не снимая пробирку с магнитного штатива (~3 мин). **Внимание! Не пересушите осадок магнитных частиц!**
35. Добавьте к осадку магнитных частиц **50 мкл Воды без нуклеаз (В)** , снимите пробирку с магнитного штатива.
36. Тщательно вортексируйте образец. Инкубируйте 5 минут при температуре от 15 до 35°C, периодически вортексируя. При использовании высокоскоростного шейкера вортексируйте/шейкируйте образец непрерывно в течение 5 минут.
37. Поместите пробирку на магнитный штатив, выдержите до восстановления полной прозрачности раствора.
38. Перенесите очищенный супернатант, содержащий РНК, в чистую 1,5 мл пробирку.
39. Препарат РНК рекомендуется хранить при температуре ≤ минус 80°C.

Сорбция и очистка ДНК

40. Подготовьте твердотельный термостат с температурой 55°C.
41. Начинать выделение ДНК следует с осадка Магнитных частиц А, полученного в ходе выполнения пункта 15 раздела Выделение нуклеиновых фракций.
42. Добавьте к осадку **500 мкл Промывочного буфера (ПБ)** . **Внимание:** перед использованием **ПБ** необходимо разбавить 95% этанолом согласно Разделу 15.
43. Снимите пробирку с магнитного штатива, вортексируйте в течение 10 секунд.
44. Центрифугируйте образец для сброса капель.
45. Поместите пробирку на магнитный штатив, выдержите до восстановления полной прозрачности раствора и формирования осадка частиц.
46. Отберите и сбросьте супернатант, не задевая осадок магнитных частиц.
47. Добавьте к осадку магнитных частиц **500 мкл 75% этанола**.
48. Снимите пробирку с магнитного штатива и вортексируйте в течение 10 секунд.
49. Центрифугируйте образец для сброса капель.
50. Поместите пробирку на магнитный штатив, выдержите до восстановления полной прозрачности раствора и формирования осадка частиц.
51. Отберите и сбросьте супернатант, не задевая осадок магнитных частиц.
52. Повторите этапы 47–51 для повторной промывки **75% этанолом**.
53. Центрифугируйте образец в импульсном режиме для сбора капель на дне пробирки. Поместите пробирку на магнитный штатив, дождитесь формирования осадка частиц на

стенке пробирки, удалите остаточные капли этанола. Оставьте крышку пробирки открытой и высушите осадок магнитных частиц, не снимая пробирку с магнитного штатива (~10 мин).

Внимание! Не пересушите осадок магнитных частиц!

54. Добавьте к осадку магнитных частиц **50 мкл Воды без нуклеаз (В)** , снимите пробирку с магнитного штатива.

55. Тщательно вортексируйте образец. Поместите пробирку в высокоскоростной термошейкер на 55°C и непрерывно вортексируйте в течение 10 минут. При отсутствии термошейкера инкубируйте в твердотельном термостате при 55°C в течение 10 минут, периодически вортексируя (2–3 раза).

56. Поместите пробирку на магнитный штатив, выдержите до восстановления полной прозрачности раствора.

57. Перенесите очищенный супернатант, содержащий ДНК, в чистую 1,5 мл пробирку.

58. Препарат ДНК рекомендуется хранить при температуре от минус 22 до минус 18°C.

18. РЕШЕНИЕ ПРОБЛЕМ

Проблема	Причина	Решение
Низкий выход ДНК	Недостаточное ресуспендирование Магнитных частиц А	Тщательное вортексирование Магнитных частиц А перед использованием
	Некорректное приготовление ПБ	Подготовить ПБ согласно разделу ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ
	Потеря магнитных частиц в ходе выполнения протокола	Увеличить время магнетизации
	Неполный лизис образца за 1 час	Оставить лизис на ночь при температуре 56°C
Низкий выход РНК	Недостаточное ресуспендирование Магнитных частиц Б	Тщательное вортексирование Магнитных частиц Б перед использованием
	Некорректное приготовление ПБ	Подготовить ПБ согласно разделу ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ
	Потеря магнитных частиц в ходе выполнения протокола	Увеличить время магнетизации
Перенос магнитных частиц в элюат	Перенос магнитных частиц в элюат не влияет на успешность выделения	Осторожный перенос элюата, не задевая осадок

19. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

Информация, об особенностях транспортирования и хранения должна учитываться всеми лицами, участвующими в транспортировании, хранении и утилизации (уничтожении) данного Набора реагентов.

Транспортирование

- Транспортирование Набора реагентов осуществляется в течение не более 3 суток при температуре от 15 до 25°C.
- Транспортирование Набора реагентов производится всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта, при соблюдении температурного режима.

- Наборы реагентов, транспортировавшиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

Хранение

После транспортирования необходимо разукomплектовать компоненты Набора реагентов согласно температурным режимам хранения:

- Протеиназу К, Магнитные частицы А и Магнитные частицы Б следует хранить при температуре от 2 до 8°C.

Внимание! Все реагенты должны храниться в чистой (пре-ПЦР) зоне.

- Все остальные компоненты следует хранить при комнатной температуре от 15 до 25°C.
- После вскрытия компоненты изделия хранятся в соответствии с информацией, указанной на маркировке каждого компонента.
- В компонентах Связывающий буфер (СБ) и Промывочный буфер (ПБ) может образоваться осадок. Перед использованием растворить осадок можно непродолжительным нагреванием реагента на термостате при 37°C и легким встряхиванием.
- Хранение компонентов Набора реагентов при температуре от 2°C до 8°C должно осуществляться в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.
- Компоненты Набора реагентов, хранившиеся с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

20. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

- Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 "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 коммунальным 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) мероприятий" собираются в многоразовые емкости или одноразовые пакеты. Цвет пакетов может быть любой, за исключением желтого и красного. Одноразовые пакеты располагаются на специальных тележках или внутри многоразовых контейнеров. Емкости для сбора медицинских отходов и тележки должны быть промаркированы "Отходы. Класс А". Заполненные многоразовые емкости или одноразовые пакеты перегружаются в маркированные контейнеры, предназначенные для сбора медицинских отходов данного класса, установленные на специальной площадке (в

помещении). Многоразовая тара после удаления из нее отходов подлежит мойке и дезинфекции.

- 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 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.

21. СРОК ГОДНОСТИ

- Срок годности Набора реагентов составляет 9 месяцев с даты производства.
- Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

22. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

- Предприятие-изготовитель гарантирует стабильность Наборов реагентов, соответствие основных параметров и характеристик Наборов реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации на протяжении всего срока годности при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

- По вопросам, касающимся качества Набора реагентов, а также в случае изменения аналитических характеристик следует обращаться к производителю, обращения могут быть направлены в письменном виде на почтовый адрес производителя либо по электронной почте, указанные в разделе КОНТАКТЫ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.

- При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению Набора реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации Набора реагентов, рекомендуется направить сообщение адресу, указанному в разделе КОНТАКТЫ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

23. КОНТАКТЫ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ


ООО «ПАРСЕК ЛАБ»

ИНН 7816584473, ОГРН 1147847123797

197350, Россия, г. Санкт-Петербург, дорога в Каменку, д. 74, лит. А,
помещение 1-Н, комната 347 (K711) 348 (K708)

E-mail: info@parseq.group/ info@parseq.pro

Телефон: +7 499 550 6889/ +7 812 243 1190

Web-сайт: www.parseq.pro

прописью

Директор ООО «ПАРСЕК»

И.А. [подпись]

ноября 2024 г.

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «ПАРСЕК»
ПАРСЕК ЛАБ С.О.О. «ПАРСЕК»
ОГРН 11816544473
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
ПАРСЕК ЛАБ COMPANY