

ДНК-100 (R)

Набор реагентов для экстракции ДНК из
биологического материала человека (ДНК-100 (R))
по ТУ 21.20.23-020-19926214-2023

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

Форма 1 **REF** E007-1  96

Форма 2 **REF** E007-2  96

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ.....	4
1.1 Область применения.....	4
2 ФОРМЫ ВЫПУСКА	4
3 СОСТАВ	4
4 ПРИНЦИП МЕТОДА.....	5
5 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	6
6 ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	7
7 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	9
7.1 Потенциально интерферирующие вещества	10
8 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	10
8.1 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 1 (автоматическая методика с использованием автоматической станции «Amplitech E1»)	10
8.2 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (автоматическая методика с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™)	12
8.3 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием магнитного штатива или центрифугирования)	13
8.4 Хранение очищенной ДНК	15
9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.....	15
9.1 Контроли, используемые этапе экстракции ДНК.....	15
9.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации	15
10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	16
11 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.	16
11.1 Срок годности	16
11.2 Хранение.....	16
11.3 Транспортирование.....	16
11.4 Эксплуатация.....	16
12 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ.....	16
13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	17
14 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	18
15 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА	18
16 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	18

ВВЕДЕНИЕ

Настоящая инструкция по применению версии 01.02.23 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для экстракции ДНК из биологического материала человека» (ДНК-100 (R)) по ТУ 21.20.23-020-19926214-2023» (далее – набор).

Краткое наименование набора: ДНК-100 (R).

Набор следует применять в соответствии с действующей версией инструкции по применению. Для удобства работы в лаборатории допускается использовать действующую версию краткого руководства по применению набора.

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор является вспомогательным средством в лабораторной диагностике *in vitro*. Набор предназначен для экстракции ДНК из биологического материала человека для последующего исследования методом ПЦР с использованием совместимых¹ наборов реагентов производства ООО «Амплитек». Противопоказания к применению изделия отсутствуют.

Для проведения экстракции ДНК с помощью набора следует использовать следующие виды биологического материала:

- соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала;
- мазки со слизистой оболочки влагалища.

Набор может применяться в зависимости от его формы выпуска для экстракции ДНК совместно с автоматическими станциями «Amplitech E1» (ООО «Амплитек») и KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific, Финляндия), а также для ручных методик экстракции ДНК с использованием магнитного штатива или центрифуги.

1.1 Область применения

Набор является вспомогательным средством в лабораторной диагностике *in vitro* (экстракции ДНК из биологического материала человека). Набор может применяться в клиничко-диагностических лабораториях.

2 ФОРМЫ ВЫПУСКА

Набор выпускается в двух формах² (см. таблицу 1).

Таблица 1

Описание форм выпуска набора

Форма	Назначение	Количество исследований, в том числе для контролей
1	Для проведения экстракции ДНК с применением автоматической методики с использованием автоматической станции пробоподготовки «Amplitech E1» (ООО «Амплитек»).	96
2	Для проведения экстракции ДНК с применением: - ручной методики с использованием центрифугирования, - ручной методики с использованием магнитного штатива, - автоматической методики с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific, Финляндия).	96

3 СОСТАВ

Состав набора указан в таблицах 2, 3 и 4.

¹ Сведения о совместимости указаны в инструкции по применению ПЦР-набора. В ходе проведения клинических испытаний набор был валидирован с набором реагентов «Amplitech STIC (R)» (ООО «Амплитек»).

² Набор в форме выпуска 1 упакован в коробку из картона, в форме выпуска 2 - в полиэтиленовый пакет с застёжкой Zip-Lock.

Состав формы 1

Компонент	Количество	Внешний вид
Картридж с реагентами ДНК-100 (R)	2 шт.	96-луночные планшеты с реагентами, запаянные фольгированной плёнкой
Одноразовые наконечники	96 шт.	Наконечники с фильтром
Одноразовые пробирки	96 шт.	Стрипованные или индивидуальные пробирки
Плёнки для картриджа	8 шт.	Клейкие плёнки
Инструкция по применению	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	1 шт.	В электронном виде ³ по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

Таблица 3

Расположение и объём реагентов в картридже, входящем в состав формы 1

Ряды ячеек	Реагент	Номинальный объём в ячейке, мл	Внешний вид	
A, C, E, G	Буфер E1 (Раствор для лизиса с магнетизированной силикой и внутренним контролем ВКО-FL)	 Опасно ⁴	0,20	Суспензия ⁵ от рыжего до чёрного цвета
B, D, F, H	Буфер E2(R) (Раствор для отмывки и элюции)		0,75	Прозрачная бесцветная жидкость

Таблица 4

Состав формы 2

Компонент	Номинальный объём, мл	Количество	Внешний вид
Буфер E1  Опасно ³	19,2	1 флакон	Суспензия ⁴ от рыжего до чёрного цвета
(Раствор для лизиса с магнетизированной силикой и внутренним контролем ВКО-FL)			
Буфер E2(R) (Раствор для отмывки и элюции)	72,0	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	–	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	–	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде ³ по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/
Протокол экстракции «DNA100-KF»	–	1 шт.	В электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/

4 ПРИНЦИП МЕТОДА

Экстракция ДНК проводится методом магнитной сепарации. Процедура экстракции ДНК включает:

³ В случае отсутствия доступа к Интернету обратитесь в службу технической поддержки по телефону (495) 374-13-46 для запроса о предоставлении бумажной версии паспорта.

⁴ Реагенты содержат опасные вещества, информацию по которым см. в разделе 6.

⁵ В процессе хранения возможно оседание магнетизированной силики, вследствие чего образуется осадок от рыжего до чёрного цвета в прозрачном растворе.

- обработку исследуемого образца лизирующим раствором,
- связывание ДНК с частицами магнитного сорбента (магнетизированной силики),
- удаление других компонентов лизированного биологического материала последующими отмывками сорбента при осаждении магнитного сорбента с ДНК под действием постоянного магнитного поля или с использованием центрифуги,
- элюцию ДНК при добавлении раствора для элюции к магнитному сорбенту.

5 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются оборудование и материалы, указанные в таблице 5.

Таблица 5

Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором

Форма выпуска	Необходимое оборудование и материалы
ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКаз.	
Форма 1	<ul style="list-style-type: none"> • бокс микробиологической безопасности класс II (тип А); • автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» (ООО «Амплитек», Россия; РУ № РЗН 2022/16981); • центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518); • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 10 до 100 мкл (РУ № ФСР 2009/05681); • штатив для пробирок объемом 2,0 мл; • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 100 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз; • контейнеры для элюата согласно требованиям, указанным в руководстве по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1»; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.
Автоматическая методика экстракции	
Форма 2	<ul style="list-style-type: none"> • бокс микробиологической безопасности класс II (тип А); • процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher™ и расходные материалы к нему (Thermo Fisher Scientific, Финляндия; РУ № ФСЗ 2009/05562); • центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518); • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 100 до 1000 мкл (РУ № ФСР 2009/05681); • штатив для пробирок объемом 2,0 мл; • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 100, 200 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.
Ручная методика экстракции	
	<ul style="list-style-type: none"> • бокс микробиологической безопасности класс II (тип А); • центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518); • микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10000 x g (РУ № ФСЗ 20212/13316) или магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл (РУ № РЗН 2022/16360) (в зависимости от выбранной ручной методики); • термостат для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С (РУ № ФС № 2005/519); • вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой (РУ № ФСР 2010/08928);

Форма выпуска	Необходимое оборудование и материалы
	<ul style="list-style-type: none"> • дозаторы переменного объёма, механические или электронные, с возможностью дозирования от 100 до 1000 мкл (ПУ № ФСР 2009/05681); • штатив для пробирок объёмом 1,5 и 2,0 мл; • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • микроцентрифужные пробирки объёмом 1,5 мл с крышками, одноразовые, свободные от ДНКа;з; • наконечники для дозаторов переменного объёма, с фильтром, объёмом до 100, 200 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКа;з; • наконечники для дозаторов переменного объёма, без фильтра, объёмом до 200 мкл, одноразовые; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.

6 ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Класс потенциального риска применения набора (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012) – 2б.

Работа должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р 52905 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов исследования.

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в соответствии с СанПиН 3.3686-21 (раздел IV).

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Утилизировать реагенты, входящие в состав формы 2, и плёнки для картриджа, входящие в состав формы 1, (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения) 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» к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Утилизировать одноразовые наконечники и одноразовые пробирки, входящие в состав формы 1, (использованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения,

транспортирования и применения), в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Утилизировать биологический материал, картриджи с внесёнными образцами, а также загрязнённые биологическим материалом расходные материалы (в том числе одноразовые наконечники и пробирки, входящие в состав набора) и инструменты в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса Б.

- Утилизировать внешнюю упаковку набора, инструкцию по применению и краткое руководство в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса А.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию, указанному в таблицах 2-4 для соответствующей формы выпуска набора.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром или без фильтра (при удалении надсадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя).

- Использовать защитную одежду в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Все операции проводить только в одноразовых неопудренных перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать вдыхания паров, контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

Буфер E2(R) содержит натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть поражённое место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

Буфер E1 классифицируется как опасный. Вещества, которые повлияли на его классификацию: изопропанол, гуанидин гидрохлорид, гуанидин изотиоцианат. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данным реагентом, приведены в таблице 6. Лист безопасности реагента доступен по запросу.

Таблица 6

Заявления об опасности и мер предосторожности для Буфера E1

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси.	H332: Вредно при вдыхании.
H302: Вредно при проглатывании.	H336: Может вызывать сонливость или головокружение.
H314: При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги.	H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.
H319: При попадании в глаза вызывает серьёзное раздражение.	EUN032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.

Меры предосторожности

P210: Беречь от источников воспламенения/нагрева/искр/открытого огня. Не курить.	P304+P340+P312: ПРИ ВДЫХАНИИ: Свежий воздух, покой. Обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии.
P241: Использовать взрывобезопасное оборудование и освещение.	P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз снять их и продолжить промывание водой.
P242: Использовать искробезопасные инструменты.	P332+P313: При раздражении кожи: обратиться за медицинской консультацией.
P243: Беречь от статического электричества.	P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией.
P261: Избегать вдыхания паров.	P363: Перед повторным использованием выстирать загрязнённую одежду.
P264: Вымыть тщательно руки после работы.	P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения.
P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.	P403+P233: Хранить в хорошо вентилируемом месте в плотно закрытой упаковке.
P271: Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении.	P501: Утилизировать содержимое в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.
P273: Избегать попадания в окружающую среду.	
P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства защиты глаз.	
P301+P330+P331: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополоскать рот. Не вызывать рвоту!	
P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязнённую одежду. Промыть кожу водой или принять душ.	

Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека.

7 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Набор предназначен для исследования только биологического материала, указанного в разделе 1. Взятие исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с:

- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»;
- требованиями, перечисленными в таблице 7.

Таблица 7

Требования к взятию исследуемого материала

Взятие мазков со слизистой оболочки влагалища

Взятие материала провести с помощью стерильного одноразового универсального зонда (например, «Зонд тип А5 универсальный» или «Зонд тип А1 универсальный» (ООО «Медицинские изделия», Россия; РУ № РЗН 2018/7058)) в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Взятие соскобов эпителия со слизистой оболочки цервикального канала

Взятие материала провести с помощью стерильной одноразовой цервикальной цитощётки (например, «Зонд тип F3 комбинированный» (ООО «Медицинские изделия», Россия; РУ № РЗН 2018/7058)) или стерильного одноразового универсального зонда (например, «Зонд тип А1 универсальный» (ООО «Медицинские изделия», Россия; РУ № РЗН 2018/7058)) в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Транспортирование и хранение исследуемого материала проводится согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается однократное замораживание материала.

7.1 Потенциально интерферирующие вещества

Потенциально интерферирующие вещества (ингибиторы ПЦР) и их максимальные концентрации в образце, для которых оценивалось их ингибирующее влияние на ПЦР, перечислены в таблице 8.

Таблица 8

Потенциально интерферирующие вещества

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
Мазки со слизистой оболочки влагалища, соскобы эпителия со слизистых оболочек цервикального канала	Мирамистин®	Бензилдиметил [3-(миристоиламино) пропил] аммоний хлорид моногидрат	Антисептическое средство для местного применения	0,001 %	10 % от рекомендованной дозы
	Гель-смазка интимная Contex Wave увлажняющий с пантенолом	Глицерин	Лубрикант	15 %	Объём в образце в условиях «наихудшего случая»
	Цельная кровь	–	Эндогенная субстанция	5 % v/v	
	Муцин	Очищенный белок		150 мкг/мл	

Наличие возможного ингибирующего эффекта оценивалось путём проведения процедуры экстракции ДНК с использованием набора из образцов биологического материала, в которые добавлялись потенциальные интерференты в концентрациях согласно таблице 8. Далее с экстрагированными образцами проводили ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» с использованием набора реагентов «Amplitech STIC (R)».

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально интерферирующих веществ на эффективность экстракции ДНК с использованием набора «ДНК-100 (R)» отсутствует.

8 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора реагентов для проведения амплификации включены контроли, используемые со стадии экстракции (например, положительный контроль (ПК), отрицательный контроль (ОК)), необходимо подготовить их согласно инструкции по применению этого набора.

8.1 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 1 (автоматическая методика с использованием автоматической станции «Amplitech E1»)

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1».

ВНИМАНИЕ! Для внесения в ячейки картриджа исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого образца.

8.1.1 Подготовка реагентов

8.1.1.1 Подготовить используемые контрольные образцы (например, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

8.1.1.2 Проколоть защитную фольгированную плёнку необходимого количества ячеек картриджа в рядах A/C/E/G с использованием специализированного перфоратора (входит в комплект поставки станции «Amplitech E1») для последующего внесения исследуемых и контрольных (ПК, ОК) образцов.

ВНИМАНИЕ! В картридже с ранее вскрытыми и использованными для экстракции ячейками необходимо заклеить данные ячейки клеевой плёнкой, входящей в состав набора, разрезав её по нанесённым линиям.

ВНИМАНИЕ! Исследуемые образцы и контроли должны быть внесены в ячейки картриджа не позднее чем через два часа после вскрытия ячеек.

8.1.2 Внесение образцов и запуск протокола в работу

8.1.2.1 Внести во вскрытые (проколотые) ячейки картриджа рядов A/C/E/G исследуемые и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Каждый образец должен быть внесён в отдельную ячейку картриджа.

ВНИМАНИЕ! Во избежание получения невалидных результатов, не допускается внесение в ячейки картриджа исследуемых образцов, содержащих сгустки, слизь, твёрдые частицы и другие примеси, способные закупорить одноразовые наконечники автоматической станции.

ВНИМАНИЕ! После внесения исследуемых и контрольных образцов процедура экстракции на автоматической станции должна быть запущена в течение 20 мин.

8.1.2.2 Разместить на рабочем столе автоматической станции согласно руководству по её применению: картридж с внесёнными исследуемыми образцами и контролями, необходимое количество одноразовых наконечников и пробирок, входящих в состав набора, а также используемые контейнеры для элюата.

8.1.2.3 Запустить выполнение протокола экстракции ДНК согласно руководству по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1» с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «ДНК-100 (R)».

Примечание – Объём элюции указать в протоколе в соответствии с инструкцией по применению используемого набора реагентов для проведения амплификации.

8.1.2.4 Надосадочная жидкость в контейнерах для элюата, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную ДНК, которую можно использовать для постановки ПЦР.

8.2 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (автоматическая методика с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™)

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации процессора KingFisher™.

ВНИМАНИЕ! Для внесения в лунки планшета реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого реагента/образца.

8.2.1 Подготовка реагентов

8.2.1.1 Перемешать тщательно взбалтыванием Буфер E1 и Буфер E2(R).

ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером E1 не должно оставаться осадка.

8.2.1.2 Подготовить используемые контрольные образцы (например, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

8.2.2 Подготовка глубоколуночных планшетов

Перед проведением автоматической экстракции с использованием процессора KingFisher™ необходимо разнести реагенты, входящие в состав данного набора, по глубоколуночным планшетам, совместимым с прибором. Для этого необходимо выполнить порядок действий, указанный ниже.

8.2.2.1 Промаркировать 4 глубоколуночных планшета: E1, E2(R), Э, Гр.

8.2.2.2 В лунки планшета E1 внести по 200 мкл Буфера E1.

8.2.2.3 В лунки планшета E2(R) внести по 500 мкл Буфера E2(R).

8.2.2.4 В лунки планшета Э внести от 100 до 250 мкл Буфера E2(R).

Примечание - Требуемый объём Буфера E2(R) (объём элюции) см. в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Не допускается хранение планшета Э в открытом виде во избежание испарения Буфера E2(R) и уменьшения объёма реагента в ячейках.

8.2.2.5 В планшет Гр поместить насадку на магнитную голову KingFisher™.

8.2.3 Загрузка протокола экстракции

Для проведения экстракции ДНК с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ необходимо использовать протокол экстракции «DNA100R-KF», расположенный по адресу: <http://www.amplitech.ru/resources/>. Загрузка протокола в программное обеспечение «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments»⁶ для работы с прибором KingFisher™ осуществляется согласно руководству по эксплуатации программного обеспечения.

8.2.4 Внесение образцов и запуск протокола в работу

8.2.4.1 Внести в ячейки подготовленного планшета E1 с реагентами исследуемые и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник.

⁶ Программное обеспечение поставляется с процессором магнитных частиц KingFisher™.

- 8.2.4.2 Выбрать в программном обеспечении «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments» загруженный протокол «DNA100R-KF».
- 8.2.4.3 По запросу программного обеспечения прибора установить в него подготовленные планшеты E1, E2(R), Э, Гр. После установки планшетов запустить процедуру экстракции ДНК.
- 8.2.4.4 Надосадочная жидкость в планшете Э, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную ДНК, которую можно использовать для постановки ПЦР.

8.3 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием магнитного штатива или центрифугирования)

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого реагента/образца.

8.3.1 Подготовка реагентов

8.3.1.1 Перемешать тщательно взбалтыванием Буферы E1 и Буфер E2(R).

ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером E1 не должно оставаться осадка.

8.3.1.2 Подготовить используемые контрольные образцы (например, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

8.3.1.3 Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов.

8.3.1.4 Внести в каждую промаркированную пробирку по 200 мкл Буфера E1.

8.3.2 Проведение экстракции ДНК с использованием центрифугирования

8.3.2.1 Внести в промаркированные пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.2 Поместить пробирки в термостат с температурой 60 °С на 3 мин.

8.3.2.3 Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.4 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.5 По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.

8.3.2.6 Добавить в пробирки по 500 мкл Буфера E2(R), плотно закрыть крышки.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера E2(R) содержимое пробирок **не перемешивать**.

8.3.2.7 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.8 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.5.

8.3.2.9 Добавить в пробирки от 100 до 250 мкл Буфера E2(R). Плотно закрыть крышки.

Примечание – Требуемый объем Буфера E2(R) (объем элюции) см. в инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

- 8.3.2.10 Перемешать на вортексе, добиваясь максимально полной гомогенизации магнетизированной силики в растворе.
- 8.3.2.11 Поместить пробирки в термостат с температурой 80°C на 5 мин.
- 8.3.2.12 Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
- 8.3.2.13 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.
- 8.3.2.14 Надосадочную жидкость, содержащую очищенную ДНК, можно использовать для постановки ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение препарата ДНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования препарат не был внесён в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

8.3.3 Проведение экстракции ДНК с использованием магнитного штатива

- 8.3.3.1 Внести в промаркированные пробирки исследуемые и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.
- 8.3.3.2 Поместить пробирки в термостат с температурой 60°C на 3 мин.
- 8.3.3.3 Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
- 8.3.3.4 Поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин.
- 8.3.3.5 Без снятия пробирок со штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.
- 8.3.3.6 Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в пробирки по 500 мкл Буфера E2(R).

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера E2(R) содержимое пробирок **не перемешивать**.

- 8.3.3.7 Инкубировать при комнатной температуре 3 мин.
- 8.3.3.8 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.3.5.
- 8.3.3.9 Добавить в пробирки от 100 до 250 мкл Буфера E2(R). Плотно закрыть крышки.

Примечание – Требуемый объём Буфера E2(R) (объём элюции) см. в инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

- 8.3.3.10 Перемешать на вортексе, добиваясь максимально полной гомогенизации магнетизированной силики в растворе.
- 8.3.3.11 Поместить пробирки в термостат с температурой 80°C на 5 мин.
- 8.3.2.15 Перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли на вортексе.
- 8.3.3.12 Поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин.
- 8.3.3.13 Надосадочную жидкость, содержащую очищенную ДНК, можно использовать для постановки ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

8.4 Хранение очищенной ДНК

Для хранения ДНК необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку. Рекомендуется хранить очищенную ДНК:

- при температуре от 2 °С до 8 °С не более недели,
- при температуре от минус 24 °С до минус 16 °С не более 6 месяцев,
- при температуре не выше минус 68 °С не более года.

9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

9.1 Контроли, используемые этапе экстракции ДНК

Контроль этапа экстракции ДНК осуществляется одновременно с оценкой достоверности результатов этапа амплификации согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации. Результаты исследования контролей, проходящих экстракцию ДНК вместе с исследуемыми образцами, должны соответствовать критериям оценки, указанным в инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

9.1.1 Отрицательный и положительный контроли

Каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы, если они предусмотрены для проведения исследования согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации:

- ОК для выявления контаминации в процессе проведения исследования;
- ПК для контроля корректного прохождения исследования.

9.1.2 Внутренний контроль

Для контроля качества экстракции ДНК и оценки влияния ингибиторов на результаты ПЦР в исследовании может использоваться экзогенный⁷ и эндогенный⁸ внутренний контроль (ВК). Отсутствие результатов амплификации для ВК и одновременно для выявляемой мишени свидетельствует о возможном присутствии ингибиторов ПЦР в образце.

9.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Для выявления возможной контаминации лаборатории продуктами амплификации, исследуемыми и контрольными образцами рекомендуется раз в месяц исследовать смывы с рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений согласно процедуре, указанной в МУ 1.3.2569-09. При обнаружении контаминации необходимо провести мероприятия по её устранению согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

⁷ Входит в состав Буфера Е1.

⁸ В качестве эндогенного ВК используются мишени, предусмотренные набором реагентов для проведения амплификации.

10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Эффективность экстракции ДНК для всех заявленных видов биологического материала составляет 100 % (99,2 % – 100 % с достоверностью 95 %)⁹. Указанное значение характеристики достигается при соблюдении требований, приведённых в разделе 7.

Набор обеспечивает экстракцию ДНК с чистотой, достаточной для выявления ДНК методом ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Чистота экстракции подтверждена при выявлении ДНК *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, HSV1, *Candida albicans* в концентрации 200, 0,75, 800, 20 ГЭ/мл соответственно, в 100 % случаев.

11 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты в пробирках и флаконах использовать до истечения срока годности набора. После вскрытия ячеек картриджа с реагентами экстракция с использованием вскрытых ячеек должна быть проведена в течение 140 мин (с учётом времени, затрачиваемого на внесение в ячейки исследуемых образцов и контролей).

11.2 Хранение

Набор хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в защищённом от солнечного света месте. Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия.

11.3 Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 25 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

11.4 Эксплуатация

Реагенты, входящие в состав набора, готовы к использованию.

Ячейки картриджа с реагентами предназначены для однократного использования.

Экстракция ДНК с использованием набора должно проводиться при температуре от 18 °С до 25 °С и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

12 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применены следующие сокращения:

- ВК – внутренний контроль
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ДНКаза – дезоксирибонуклеаза

⁹ На примере экстракции ДНК *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, HSV1, *Candida albicans* в концентрации 200, 0,75, 800, 20 ГЭ/мл соответственно, из биоматериала, помещённого в транспортную среду.

- ОК – отрицательный контроль
ПК – положительный контроль
ПЦР – полимеразная цепная реакция

13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

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

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

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

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*

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

14 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении условий его транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора направлять в адрес производителя: ООО «Амплитек», 109235, Москва, ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42, тел. (495) 374-13-46, e-mail: support@amplitech.ru.

Сообщения о неблагоприятных событиях (инцидентах), возникших при работе с набором, следует направлять производителю по указанному выше адресу и в уполномоченный регуляторный орган согласно действующему законодательству.

15 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Консультацию по вопросам по работе с набором и его качеству можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: www.amplitech.ru.

16 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

	Изготовитель		Код серии
	Дата изготовления		Использовать до
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Не допускать воздействия солнечного света
	Обратитесь к инструкции по применению		Предел температуры
	Содержимого достаточно для проведения n тестов		Осторожно!
	Номер по каталогу		Знаки опасности



Общество с ограниченной ответственностью «Амплитек»
(ООО «Амплитек»),
Россия, 109235, Москва,
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42
тел. (495) 374-13-46, www.amplitech.ru,
e-mail: support@amplitech.ru