

ДНК-ВПЧ (R)

Набор реагентов для экстракции ДНК из биологического материала человека (ДНК-ВПЧ (R))

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

Форма 1 **REF** E004-1  48

Форма 2 **REF** E004-2  96

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ.....	4
1.1 Область применения.....	4
2 ФОРМЫ ВЫПУСКА	4
3 СОСТАВ.....	4
4 ПРИНЦИП МЕТОДА.....	6
5 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	6
6 ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	7
7 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	10
7.1 Потенциально интерферирующие вещества	10
8 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	11
8.1 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 1 (автоматическая методика с использованием автоматической станции «Amplitech E1»)	12
8.2 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (автоматическая методика с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™)	13
8.3 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием центрифугирования).....	15
8.4 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием магнитного штатива)	17
8.5 Хранение очищенной ДНК	19
9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.....	19
9.1 Контроли, используемые этапе экстракции ДНК.....	19
9.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации	19
10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	20
11 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА.....	20
11.1 Срок годности	20
11.2 Хранение.....	20
11.3 Транспортирование.....	20
11.4 Эксплуатация.....	20
12 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ.....	20
13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	21
14 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	22
15 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА	22
16 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	22

ВВЕДЕНИЕ

Настоящая инструкция по применению версии 04.05.22 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для экстракции ДНК из биологического материала человека» (ДНК-ВПЧ (R))» по ТУ 21.20.23-008-19926214-2021 (далее – набор).

Краткое наименование набора: ДНК-ВПЧ (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 вирусов папилломы человека (ВПЧ) и ДНК человека из биологического материала человека для последующего исследования методом ПЦР с использованием совместимых¹ наборов реагентов производства ООО «Амплитек». Для проведения экстракции ДНК с помощью набора следует использовать следующие виды биологического материала:

- мазки со слизистой оболочки влагалища и соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса), помещённые в транспортную среду, не предназначенную для жидкостной цитологии;
- соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса), помещённые в среду для жидкостной цитологии.

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 клинико-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»).	48
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 HPV GT (R)» (ООО «Амплитек»). Валидация была проведена с использованием образцов биологического материала, содержащих ДНК ВПЧ 6, 11, 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 типов.

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-ВПЧ (R)	2 шт.	96-луночные планшеты с реагентами, запаянные фольгированной плёнкой
Одноразовые наконечники	48 шт.	Наконечники с фильтром
Одноразовые пробирки	48 шт.	Стрипованные или индивидуальные пробирки
Плёнки для картриджа	4 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, E	Буфер С1 (Раствор для лизиса с магнетизированной силикой)  Опасно ⁴	0,35	Суспензия ⁵ от рыжего до чёрного цвета
B, F	Буфер С2 (Раствор для отмывки)  Опасно ⁴	0,70	Прозрачная бесцветная жидкость
C, G	Вода для промывки наконечников	1,00	Прозрачная бесцветная жидкость
D, H	Буфер С3(R) (Раствор для элюции)	1,05	Прозрачная бесцветная жидкость

Таблица 4

Состав формы 2

Компонент	Номинальный объём, мл	Количество	Внешний вид
Буфер С1 (Раствор для лизиса с магнетизированной силикой)  Опасно ⁴	33,6	1 флакон	Суспензия ⁵ от рыжего до чёрного цвета
Буфер С2 (Раствор для отмывки)  Опасно ⁴	68,0	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость
Буфер С3(R) (Раствор для элюции)	101,0	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/

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.

Компонент	Номинальный объём, мл	Количество	Внешний вид
Протокол экстракции «DNA-HPV-R-KF-Full»	–	1 шт.	В электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Протокол экстракции «DNA-HPV-R-KF-Short»	–	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:

- 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 ⁶
ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКаз.	
Форма 1	<ul style="list-style-type: none"> • автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» (ООО «Амплитек», Россия; РУ № РЗН 2022/16981); • бокс микробиологической безопасности класс II (тип А) (РУ № ФСР 2012/13259); • центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518); • дозаторы переменного объёма, механические или электронные, с возможностью дозирования от 10 до 100 мкл (РУ № ФСР 2009/05681); • штатив для пробирок объёмом 2,0 мл (РУ № ФСЗ 2012/11892); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • наконечники для дозаторов переменного объёма, с фильтром, объёмом до 10 и 100 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз (РУ № ФСЗ 2012/12077); • 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"> • процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher™ и расходные материалы к нему (Thermo Fisher Scientific, Финляндия; РУ № ФСЗ 2009/05562); • бокс микробиологической безопасности класс II (тип А) (РУ № ФСР 2012/13259); • центрифуга-вортекс (РУ № ФС № 2005/518); • дозаторы переменного объёма, механические или электронные, с возможностью дозирования от 100 до 1000 мкл (РУ № ФСР 2009/05681); • штатив для пробирок объёмом 2,0 мл (РУ № ФСЗ 2012/11892); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С;

⁶ В скобках указаны номера регистрационных удостоверений (РУ) для медицинских изделий, совместное применение с которыми было валидировано в ходе проведения клинических испытаний набора.

Форма выпуска	Необходимое оборудование и материалы ⁶
	<ul style="list-style-type: none"> • наконечники для дозаторов переменного объёма, с фильтром, объёмом до 100, 200 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаЗ (ПУ № ФСЗ 2012/12077); • 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) (ПУ № ФСР 2012/13259); • центрифуга-вортекс (ПУ № ФС № 2005/518); • микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объёмом 1,5 мл с ускорением не менее 10000 x g (ПУ № ФСЗ 20212/13316) или магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объёмом 1,5 мл (ПУ № РЗН 2022/16360) (в зависимости от выбранной ручной методики); • термостат для пробирок типа «Эппендорф» объёмом 1,5 мл с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С (ПУ № ФС № 2005/519); • вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой (ПУ № ФСР 2010/08928); • 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 (ПУ № ФСЗ 2012/11892); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • микроцентрифужные пробирки объёмом 1,5 мл с крышками, одноразовые, свободные от ДНКаЗ (ПУ № ФСЗ 2009/05024); • наконечники для дозаторов переменного объёма, с фильтром, объёмом до 100, 200 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаЗ (ПУ № ФСЗ 2012/12077); • наконечники для дозаторов переменного объёма, без фильтра, объёмом до 200 мкл, одноразовые (ПУ № ФСЗ 2012/12077); • 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, (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 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.

Вода для промывки наконечников и Буфер СЗ(Р) содержат натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируются как опасные 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 С1 и Буфер С2 классифицируются как опасные. Вещества, которые повлияли на их классификацию, а также коды заявлений об опасности и мер предосторожности, требуемых при работе с данными реагентами, приведены в таблице 6. Расшифровка кодов представлена в таблице 7. Листы безопасности реагентов доступны по запросу.

Таблица 6

Информация об опасных реагентах, входящих в состав набора

Реагент	Опасные вещества ⁷	Код заявления об опасности	Код меры предосторожности
Буфер С1	Гуанидин гидрохлорид, гуанидин изотиоцианат, спирт изопропиловый, 1-тиоглицерол	H225, H302, H314, H319, H332, H336, H412, EUH032	P210, P241, P242, P243, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338, P332+P313, P337+P313, P363, P370+P378, P403+P233, P501
Буфер С2	Гуанидин изотиоцианат, спирт изопропиловый	H225, H302, H314, H319, H336, H412, EUH032	P210, P241, P242, P243, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338, P332+P313, P337+P313, P363, P370+P378, P403+P233, P501

Таблица 7

Расшифровка кодов заявлений об опасности и мер предосторожности

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.	EUH032: 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.	

⁷ Буфер С1 и Буфер С2 содержат натрия азид в концентрации (не более 0,05 %), не влияющей на классификацию данных реагентов как опасных.

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 и предварительную обработку 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 8.

Таблица 8

Требования к взятию и предварительной обработке исследуемого материала

Взятие мазков со слизистой оболочки влагалища
Взятие материала провести с помощью стерильного одноразового зонда-тампона или стерильного одноразового универсального зонда 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 и предобработка соскобов эпителия со слизистой оболочки цервикального канала

Взятие материала провести с помощью стерильной одноразовой цервикальной цитощётки или стерильного одноразового универсального зонда в ёмкость 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; или
- средой для проведения жидкостной цитологии (например, жидкость консервирующая BD SurePath™ (Becton Dickinson and Company, США) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Предобработка:

ВНИМАНИЕ! При исследовании биоматериала, помещённого в среду для жидкостной цитологии, требуется его предобработка.

ВНИМАНИЕ! Необходимо использовать отдельный наконечник для каждого образца исследуемого материала.

Автоматическим дозатором на 1000 мкл отобрать 1,0 мл клеточного осадка со дна флакона с образцом и перенести в стерильную одноразовую пробирку объёмом 1,5 мл, пробирку промаркировать. Центрифугировать 2 мин при 10000 x g. Не захватывая осадок, аккуратно удалить надосадочную жидкость отдельным наконечником на 200 мкл без фильтра, используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, или отдельным наконечником с фильтром, используя автоматический дозатор. В пробирке должно остаться 100–200 мкл среды с осадком. Перед внесением подготовленного образца в Буфер С1 ресуспендировать клеточный осадок вортированием.

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 9.

Таблица 9

Потенциально интерферирующие вещества

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
Мазки/соскобы эпителия в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии	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		5 % v/v	
Соскобы эпителия в среде для жидкостной цитологии	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»
	Транспортная среда BD SurePath™	Метанол	Среда для жидкостной цитологии	90 %	
	Цельная кровь	–	Эндогенная субстанция	5 % v/v	
	Муцин	Очищенный белок		5 % v/v	

Наличие возможного ингибирующего эффекта оценивалось путём проведения процедуры экстракции ДНК с использованием набора из модельных образцов биологического материала, в которые добавлялись потенциальные интерференты в концентрациях согласно таблице 9 и стандартный образец предприятия, содержащий ДНК ВПЧ 16 типа в концентрации 1000 копий/мл. Далее с экстрагированными образцами проводили ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» с использованием набора реагентов «Amplitech HPV GT (R)».

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально интерферирующих веществ на эффективность экстракции ДНК с использованием набора «ДНК-ВПЧ (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 А и/или Е 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 клейкой 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 А/Е исследуемые⁸ 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 протоколов, указанных в кратком руководстве по

⁸ Для соскобов эпителия в транспортной среде для жидкостной цитологии необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

применению набора «ДНК-ВПЧ (R)». Выбор протокола осуществляется в соответствии с исследуемым видом биоматериала.

Примечание – Объем 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.

Выбор протокола экстракции (см. таблицу 10) осуществляется в соответствии с исследуемым видом биоматериала:

- Полный протокол для соскобов эпителия в среде для жидкостной цитологии,
- Короткий протокол для мазков и соскобов эпителия в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии.

Таблица 10

Протоколы экстракции ДНК с использованием процессора KingFisher™

Экстракция использованием процессора KingFisher™	
Полный протокол	Короткий протокол
Подготовка реагентов	
<ul style="list-style-type: none"> • Перемешать тщательно взбалтыванием Буфер С1, Буфер С2 и Буфер С3(R). <p>ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером С1 не должно оставаться осадка.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Подготовить используемые контрольные образцы (например, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. 	<ul style="list-style-type: none"> • Перемешать тщательно взбалтыванием Буфер С1 и Буфер С3(R). <p>ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером С1 не должно оставаться осадка.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Подготовить используемые контрольные образцы (например, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.
Подготовка глубоколоночных планшетов	
<ul style="list-style-type: none"> • Промаркировать 5 глубоколоночных планшетов, совместимых с прибором: С1, С2, С3(R), Э, Гр. • В лунки планшета С1 внести по 350 мкл Буфера С1. • В лунки планшета С2 внести по 700 мкл Буфера С2. • В лунки планшета С3(R) внести по 800 мкл Буфера С3(R). • В лунки планшета Э внести требуемый объем Буфера С3(R). 	<ul style="list-style-type: none"> • Промаркировать 4 глубоколоночных планшета, совместимых с прибором: С1, С3(R), Э, Гр. • В лунки планшета С1 внести по 350 мкл Буфера С1. • В лунки планшета С3(R) внести по 800 мкл Буфера С3(R). • В лунки планшета Э внести требуемый объем Буфера С3(R). <p>Примечание - Требуемый объем Буфера С3(R) (объем элюции) см. в инструкции к</p>

Экстракция использованием процессора KingFisher™	
Полный протокол	Короткий протокол
<p>Примечание - Требуемый объём Буфера С3(R) (объём элюции) см. в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.</p> <p>ВНИМАНИЕ! Не допускается хранение планшета Э в открытом виде во избежание испарения Буфера С3(R) и уменьшения объёма реагента в ячейках.</p> <ul style="list-style-type: none"> В планшет Гр поместить насадку на магнитную голову KingFisher™. 	<p>используемому набору реагентов для проведения амплификации.</p> <p>ВНИМАНИЕ! Не допускается хранение планшета Э в открытом виде во избежание испарения Буфера С3(R) и уменьшения объёма реагента в ячейках.</p> <ul style="list-style-type: none"> В планшет Гр поместить насадку на магнитную голову KingFisher™.
Загрузка протокола экстракции	
<p>Для проведения экстракции ДНК с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ необходимо использовать протокол экстракции «DNA-HPV-R-KF-Full», расположенный по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/. Загрузка протокола в программное обеспечение «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments»⁹ для работы с прибором KingFisher™ осуществляется согласно руководству по эксплуатации программного обеспечения.</p>	<p>Для проведения экстракции ДНК с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ необходимо использовать протокол экстракции «DNA-HPV-R-KF-Short», расположенный по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/. Загрузка протокола в программное обеспечение «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments»⁹ для работы с прибором KingFisher™ осуществляется согласно руководству по эксплуатации программного обеспечения.</p>
Внесение образцов и запуск протокола в работу	
<ul style="list-style-type: none"> Внести в ячейки подготовленного планшета С1 с реагентом исследуемые¹⁰ и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Выбрать в программном обеспечении «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments» загруженный протокол «DNA-HPV-R-KF-Full». По запросу программного обеспечения прибора установить в него подготовленные планшеты С1, С2, С3(R) Э, Гр. После установки планшетов запустить процедуру экстракции ДНК. Надосадочная жидкость в планшете Э, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную ДНК, которую можно использовать для постановки ПЦР. 	<ul style="list-style-type: none"> Внести в ячейки подготовленного планшета С1 с реагентом исследуемые и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Выбрать в программном обеспечении «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments» загруженный протокол «DNA-HPV-R-KF-Short». По запросу программного обеспечения прибора установить в него подготовленные планшеты С1, С3(R) Э, Гр. После установки планшетов запустить процедуру экстракции ДНК. Надосадочная жидкость в планшете Э, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную ДНК, которую можно использовать для постановки ПЦР.

⁹ Программное обеспечение поставляется с процессором магнитных частиц KingFisher™.

¹⁰ Для соскобов эпителия в транспортной среде для жидкостной цитологии необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

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

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

Выбор протокола экстракции (см. таблицу 11) осуществляется в соответствие с исследуемым видом биоматериала:

- Полный протокол для соскобов эпителия в среде для жидкостной цитологии,
- Короткий протокол для мазков и соскобов эпителия в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии.

Таблица 11

Протоколы экстракции ДНК с использованием центрифугирования

Экстракция ДНК с использованием центрифугирования	
Полный протокол	Короткий протокол
Подготовка реагентов	
<ul style="list-style-type: none"> • Перемешать тщательно взбалтыванием Буфер С1, Буфер С2 и Буфер С3(R). <p>ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером С1 не должно оставаться осадка.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Подготовить используемые контрольные образцы (например, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. 	<ul style="list-style-type: none"> • Перемешать тщательно взбалтыванием Буфер С1 и Буфер С3(R). <p>ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером С1 не должно оставаться осадка.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Подготовить используемые контрольные образцы (например, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.
Экстракция ДНК	
<ul style="list-style-type: none"> • Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов. • Внести в каждую промаркированную пробирку по 350 мкл Буфера С1. • Внести в промаркированные пробирки исследуемые¹¹ и контрольные образцы в объеме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе. • Поместить пробирки в термостат с температурой 90 °С на 60 мин. • Извлечь пробирки из термостата, перемешать на вортексе, инкубировать при комнатной температуре 5 мин. • Перемешать содержимое пробирок на вортексе. • Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g. • По внутренней стенке пробирки осторожно 	<ul style="list-style-type: none"> • Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов. • Внести в каждую промаркированную пробирку по 350 мкл Буфера С1. • Внести в промаркированные пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе. • Поместить пробирки в термостат с температурой 60 °С на 3 мин. • Перемешать содержимое пробирок на вортексе. • Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g. • По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для

¹¹ Для соскобов эпителия в транспортной среде для жидкостной цитологии необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

Экстракция ДНК с использованием центрифугирования	
Полный протокол	Короткий протокол
<p>отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Добавить в пробирки по 700 мкл Буфера С2. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе. • Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x <i>g</i>. • Удалить надосадочную жидкость аналогично процедуре, указанной выше. • Добавить в пробирки по 800 мкл Буфера С3(R), плотно закрыть крышки и инкубировать при комнатной температуре 3 мин. <p>ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера С3(R) содержимое пробирок не перемешивать.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x <i>g</i>. • Удалить надосадочную жидкость аналогично процедуре, указанной выше. • Добавить в пробирки требуемый объём Буфера С3(R). Плотно закрыть крышки. <p>Примечание - Требуемый объём Буфера С3(R) (объём элюции) см. в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Перемешать содержимое пробирок на вортексе, добиваясь максимально полной гомогенизации магнетизированной силики в растворе. • Поместить пробирки в термостат с температурой 80 °С на 5 мин. • Перемешать содержимое пробирок на вортексе. • Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x <i>g</i>. • Надосадочную жидкость, содержащую очищенную ДНК, можно использовать для постановки ПЦР. <p>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.</p>	<p>каждого образца.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Добавить в пробирки по 800 мкл Буфера С3(R), плотно закрыть крышки и инкубировать при комнатной температуре 3 мин. <p>ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера С3(R) содержимое пробирок не перемешивать.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x <i>g</i>. • Удалить надосадочную жидкость аналогично процедуре, указанной выше. • Добавить в пробирки требуемый объём Буфера С3(R). Плотно закрыть крышки. <p>Примечание - Требуемый объём Буфера С3(R) (объём элюции) см. в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Перемешать содержимое пробирок на вортексе, добиваясь максимально полной гомогенизации магнетизированной силики в растворе. • Поместить пробирки в термостат с температурой 80 °С на 5 мин. • Перемешать содержимое пробирок на вортексе. • Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x <i>g</i>. • 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.

8.4 Экстракция ДНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием магнитного штатива)

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

Выбор протокола экстракции (см. таблицу 12) осуществляется в соответствие с исследуемым видом биоматериала:

- Полный протокол для соскобов эпителия в среде для жидкостной цитологии,
- Короткий протокол для мазков и соскобов эпителия в транспортной среде, не предназначенной для жидкостной цитологии.

Таблица 12

Протоколы экстракции ДНК с использованием магнитного штатива

Экстракция ДНК с использованием магнитного штатива	
Полный протокол	Короткий протокол
Подготовка реагентов	
<ul style="list-style-type: none"> • Перемешать тщательно взбалтыванием Буфер С1, Буфер С2 и Буфер С3(Р). <p>ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером С1 не должно оставаться осадка.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Подготовить используемые контрольные образцы (например, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. 	<ul style="list-style-type: none"> • Перемешать тщательно взбалтыванием Буфер С1 и Буфер С3(Р). <p>ВНИМАНИЕ! На дне флакона с Буфером С1 не должно оставаться осадка.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Подготовить используемые контрольные образцы (например, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.
Экстракция ДНК	
<ul style="list-style-type: none"> • Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объёмом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов. • Внести в каждую промаркированную пробирку по 350 мкл Буфера С1. • Внести в промаркированные пробирки исследуемые¹² и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе. • Поместить пробирки в термостат с температурой 90 °С на 60 мин. • Извлечь пробирки из термостата, перемешать на вортексе, инкубировать при комнатной температуре 5 мин вне магнитного штатива. • Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе. • Поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин. 	<ul style="list-style-type: none"> • Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объёмом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов. • Внести в каждую промаркированную пробирку по 350 мкл Буфера С1. • Внести в промаркированные пробирки исследуемые и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе. • Поместить пробирки в термостат с температурой 60 °С на 3 мин. • Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе. • Поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин. • Без снятия пробирок со штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и

¹² Для соскобов эпителия в транспортной среде для жидкостной цитологии необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

Экстракция ДНК с использованием магнитного штатива	
Полный протокол	Короткий протокол
<ul style="list-style-type: none"> • Без снятия пробирок со штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца. • Добавить в пробирки по 700 мкл Буфера С2. Плотно закрыть крышки, перемешать содержимое пробирок. • Осадить капли на вортексе и поместить в магнитный штатив на 2 мин. • Удалить надосадочную жидкость аналогично процедуре, указанной выше. • Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в них по 800 мкл Буфера С3(R), инкубировать при комнатной температуре 3 мин. <p>ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера С3(R) содержимое пробирок не перемешивать.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Удалить надосадочную жидкость аналогично процедуре, указанной выше. • Добавить в пробирки требуемый объем Буфера С3(R). Плотно закрыть крышки. <p>Примечание - Требуемый объем Буфера С3(R) (объем элюции) см. в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Перемешать содержимое пробирок на вортексе, добиваясь максимально полной гомогенизации магнетизированной силики в растворе. • Поместить пробирки в термостат с температурой 80 °С на 5 мин. • Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе. • Поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин. • Надосадочную жидкость, содержащую очищенную ДНК, можно использовать для постановки ПЦР. <p>ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.</p>	<p>отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в них по 800 мкл Буфера С3(R), инкубировать при комнатной температуре 3 мин. <p>ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера С3(R) содержимое пробирок не перемешивать.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Удалить надосадочную жидкость аналогично процедуре, указанной выше. • Добавить в пробирки требуемый объем Буфера С3(R). Плотно закрыть крышки. <p>Примечание - Требуемый объем Буфера С3(R) (объем элюции) см. в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Перемешать содержимое пробирок на вортексе, добиваясь максимально полной гомогенизации магнетизированной силики в растворе. • Поместить пробирки в термостат с температурой 80 °С на 5 мин. • Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе. • Поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин. • Надосадочную жидкость, содержащую очищенную ДНК, можно использовать для постановки ПЦР. <p>ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.</p>

8.5 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 эндогенный¹³ 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.

¹³ 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 %) ¹⁴. Указанное значение характеристики достигается при соблюдении требований, приведённых в разделе 7.

Набор обеспечивает экстракцию ДНК с чистотой, достаточной для выявления методом ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени» ДНК ВПЧ в концентрации 1000 копий/мл 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
ВПЧ	–	вирус папилломы человека
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	–	дезоксирибонуклеаза
ОК	–	отрицательный контроль
ПК	–	положительный контроль

¹⁴ На примере экстракции ДНК ВПЧ 16 типа в концентрации 1000 копий/мл из биоматериала, помещённого в транспортную среду/среду для жидкостной цитологии.

ПЦР – полимеразная цепная реакция

13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

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

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия

ГОСТ Р 15.301-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Продукция производственно-технического назначения. Порядок разработки и постановки продукции на производство

ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции. Основные положения

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

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.

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



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