**«УТВЕРЖДАЮ»**
Генеральный директор
АО «Вектор-Бест»
_____ М.Д. Хусаинов
«___» _____ 2022 г.
м.п.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
для выделения ДНК из клинических образцов
***(РеалБест ДНК-экстракция 3 (вариант 6×16))***

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для выделения ДНК из клинических образцов **«РеалБест ДНК-экстракция 3»** *(далее по тексту – набор)* предназначен для выделения ДНК из клинических образцов: мочи, сыворотки *(плазмы)* крови и соскобов эпителиальных клеток.

Набор предназначен для применения с наборами для выявления нуклеиновых кислот серии **«РеалБест»**.

Набор рассчитан на выделение ДНК из 96 образцов, включая контрольные образцы. Вариант 6×16 обеспечивает возможность проведения до 6 независимых процедур выделения по 16 образцов в каждой, включая контрольные образцы.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

### 2.1. Принцип метода.

Принцип действия набора **«РеалБест ДНК-экстракция 3»** состоит в температурной обработке пробы многокомпонентным лизирующим раствором, разрушающим комплексы нуклеиновых кислот с белками, с последующей сорбцией на магнитные частицы, покрытые силикагелем, спиртовой отмывкой и элюцией. После этого проба готова к постановке реакции ПЦР.

Принцип анализа основан на выделении нуклеиновых кислот из пробы совместно с предварительно внесённым **внутренним контрольным образцом (ВКО)** и проведении реакции амплификации выбранного фрагмента ДНК с детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени. **Положительный контрольный образец (ПКО)** входит в состав ПЦР-наборов серии **«РеалБест»**. ПКО проходит процедуру выделения наравне с биологическими пробами и **отрицательным контрольным образцом (ОКО)**.

### 2.2. Состав набора:

- **лизирующий раствор** – 6 флаконов по 10 мл;
- **раствор для отмывки** – 6 флаконов по 20 мл;
- **элюирующий раствор** – 6 флаконов по 12 мл;
- **сорбент** *(суспензия магнитных частиц)* – 2 флакона по 1 мл;
- **внутренний контрольный образец (ВКО),** лиофилизированный – 3 флакона;
- **раствор для восстановления контрольных образцов (РВК)** – 1 флакон, 4 мл;
- **отрицательный контрольный образец (ОКО)** – 2 флакона по 1 мл.

Принадлежности:

- пластиковые крышки для флаконов с ВКО – 3 шт.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## 3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА*

3.1. **Эффективность** выделения ДНК *Mycoplasma hominis* – 100%. Эффективность выделения ДНК *Mycoplasma hominis* определяется по четырём образцам с содержанием ДНК *Mycoplasma hominis* 100 копий в пробе, приготовленным из положительной биопробы стандартного образца предприятия СОП *(рег. № 05-2-440)*, как процентное содержание образцов, определенных набором как положительные.

3.2. Эффективность выделения ДНК, определённые на 288 клинических образцах – 100% *(интервал 99%–100%, с доверительной вероятностью 90%)*.

## 4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

**ВНИМАНИЕ! Несоблюдение приведённых ниже требований может привести к искажению результатов ПЦР.**

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

4.2. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности *(опасности)* и возбудителями паразитарных болезней».

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

4.4. При работе с набором следует надевать **одноразовые** медицинские перчатки.

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

4.6. Для проведения анализа необходимо использовать **только одноразовые** наконечники с фильтром для дозаторов.

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

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все рабочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами *(такими, как: 0,2% раствор ДП-2Т; 1–3% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 0,5–1% раствор «Мистраль», 0,5–2% раствор «Велтолен»)*.

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

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются *(утилизируются)* в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

## 5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный бокс 2 класса биологической защиты типа БАВп-01-«Ламинар-с»;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2–8) °С;
- термошейкер *(«Thermo Shaker TS-100», фирма «BioSan», Латвия);*
- отсасыватель медицинский *(В-40, фирма «ВИСМА-ПЛАНАР», Беларусь)*;
- встряхиватель для пробирок типа «Вортекс» *(«Bio-Vortex V-1 plus», фирма «BioSan», Латвия);*
- дозаторы одноканальные с переменным объёмом, со сменными наконечниками *(фирма «Biohit», Финляндия)*;
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые *(перчатки «NeoTouch», фирма «Ansell HealthCare», Германия)*;
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром /аэрозольным барьером *(фирма*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

*«FinnTip», Финляндия)*;

- одноразовые наконечники для дозаторов *(фирма «FinnTip», Финляндия)*;
- одноразовые полипропиленовые пробирки на 2 мл *(фирма «SSI», кат. № 2340, США)*;
- штатив магнитный для выделения нуклеиновых кислот *(АО «Вектор-Бест»)*;
- контейнер с дезинфицирующим раствором *(«Контейнер для сбора острого инструментария – ЕК-01», фирма «КМ-Проект», Россия)*.

## 6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

### 6.1. Подготовка сыворотки и плазмы крови.

Для проведения анализа использовать образцы сыворотки или плазмы, полученной с использованием в качестве антикоагулянта цитрата натрия или ЭДТА.

В течение 6 часов после взятия крови следует отобрать плазму или сыворотку в отдельную пробирку.

*Транспортировать и хранить образцы:*
*– при температуре (18–25) °С до 2 часов;*
*– при температуре (2–8) °С не более суток;*
*– при температуре минус (18–60) °С до 1 месяца.*

*Повторное замораживание-оттаивание проб не допускается.*

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

### 6.2. Подготовка соскобов эпителиальных клеток.

Исследуемый материал *(соскоб эпителиальных клеток со слизистой цервикального канала, уретры, влагалища)*, забранный с помощью одноразовых стерильных зондов, перенести в пробирку с транспортным раствором *(производства АО «Вектор-Бест»)*. Тщательно перемешать, остатки жидкости на зонде отжать о стенки пробирки, зонд извлечь *(выбросить в контейнер с дезинфицирующим раствором)*, пробирку плотно закрыть.

*Транспортировать и хранить образцы:*
*– при температуре (18–25) °С до 2 суток;*
*– при температуре (2–8) °С до 2 недель;*
*– при температуре минус (18–60) °С до 2 месяцев.*

*Повторное замораживание-оттаивание проб не допускается.*

### 6.3. Подготовка мочи.

Первую порцию утренней мочи собрать в чистый флакон с плотной крышкой. 1,5–2 мл мочи отобрать в пробирку объёмом 2 мл, центрифугировать при 3000 об/мин в течение 3 минут. Супернатант удалить практически полностью, не задевая осадок. Полученный образец использовать для выделения нуклеиновых кислот.

*Транспортировать и хранить образцы:*
*– при температуре (18–25) °С до 2 часов;*
*– при температуре (2–8) °С не более суток;*
*– при температуре минус (18–60) °С до 2 недель.*

### 6.4. Подготовка компонентов набора.

6.4.1. Перед началом работы необходимо достать набор из холодильника и выдержать при температуре (18–25) °С не менее 30 минут.

6.4.2. Достать из набора для ПЦР серии «**РеалБест**» флакон *(пробирку)* с ПКО.

6.4.3. ОКО готов к применению. *После вскрытия флакона хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца.*

6.4.4. Перед началом работы прогреть лизирующий раствор при (50–60) °С до растворения осадка, перемешать.

6.4.5. Вскрыть флакон с ВКО, удалив пластиковую крышку и резиновую пробку. Снятые крышку и пробку поместить в контейнер с дезинфицирующим раствором. Добавить **1 мл РВК**, плотно закрыть флакон новой пластиковой крышкой, входящей в состав набора. Аккуратно перемешать, выдержать

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

при температуре (18–25) °С 15 минут, после чего вновь тщательно перемешать.

*После разведения хранить при температуре (2–8) °С не более 1 месяца.*

6.4.6. Добавить во флакон с лизирующим раствором **450 мкл ВКО**.

6.4.7. Перемешать на вортексе содержимое флакона с сорбентом и во флакон с лизирующим раствором (с ВКО) добавить **200 мкл суспензии сорбента**. Тщательно перемешать.

## 7. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОБ

7.1. Отобрать и подписать необходимое для работы количество пробирок объёмом 2 мл *(по количеству исследуемых образцов, кроме образцов мочи, включая ПКО и ОКО)*. Установить их и пробирки с осадком мочи в штатив.

7.2. В пробирку отрицательного контроля выделения внести **100 мкл ОКО**.

7.3. В пробирку положительного контроля выделения внести **70 мкл ОКО** и **30 мкл ПКО** *(является компонентом набора на ПЦР)*.

7.4. В пробирки *(кроме пробирок с осадком мочи)* аккуратно, не допуская разбрызгивания, внести по 100 мкл проб*, используя наконечники с аэрозольным барьером.

**Перед внесением пробы аккуратным пипети-рованием ресуспендировать осадок из клеток, чтобы в выделение попала суспензия клеток.*

7.5. Перемешать содержимое флакона с лизирующим раствором *(с ВКО и сорбентом)* до состояния суспензии. В каждую пробирку внести по **500 мкл лизирующего раствора с ВКО и сорбентом**.

7.6. Поместить пробирки в предварительно прогретый до 42 °С термошейкер и прогреть при 250 об/мин в течение 5 минут.

7.7. Перенести пробирки в штатив и инкубировать при температуре (18-25) °С в течение 10 минут.

7.8. Установить пробирки в магнитный штатив, выдержать 1 минуту.

7.9. Используя отдельный наконечник для каждого образца, отобрать надосадочную жидкость, не задевая осадок.

7.10. Снять пробирки с магнитного штатива.

7.11. В каждую пробирку к осадку добавить **1000 мкл раствора для отмывки**. Аккуратно перемешать на вортексе, не допуская попадания жидкости на крышку пробирки. Выдержать при температуре (18–25) °С 5 минут.

7.12. Установить пробирки в магнитный штатив, выдержать 1 минуту.

7.13. Используя отдельный наконечник для каждого образца, максимально полно отобрать надосадочную жидкость, не задевая осадок.

7.14. В каждую пробирку к осадку добавить по **600 мкл элюирующего раствора**. Аккуратно перемешать на вортексе, не допуская попадания жидкости на крышку пробирки.

7.15. Поместить пробирки в предварительно прогретый до 42 °С термошейкер и прогреть при 250 об/мин в течение 10 минут.

7.16. Установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту.

Пробы готовы к постановке ПЦР-анализа.

***Внимание!*** *Выделенная ДНК может храниться при температуре (2–8) °С в течение 1 суток.*

## 8. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

8.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2–8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 25 °С не более 10 суток.

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

8.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

## 9. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

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

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

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

9.3. Производитель обязуется за свой счёт заменить изделие, технические и функциональные характеристики *(потребительские свойства)* которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

*По вопросам, касающимся качества набора* ***«РеалБест ДНК-экстракция 3»,*** *следует обращаться в* ***АО «Вектор-Бест»*** *по адресу:*

*630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,*
*тел. (383) 332-92-49, 227-60-30;*
*тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.*
*E-mail: plkobtk@vector-best.ru*

### ГРАФИЧЕСКИЕ СИМВОЛЫ

| | | | |
|---|---|---|---|
| REF | Номер по каталогу | IVD | Медицинское изделие для диагностики *in vitro* |
| Σ n | Содержимого достаточно для проведения n количества тестов | NON STERILE | Не стерильно |
| LOT | Код партии | | Температурный диапазон |
| | Дата изготовления: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число | | Изготовитель |
| | Использовать до: XXXX-XX-XX Формат даты: год-месяц-число | | Обратитесь к Инструкции по применению |
| | Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению | | |

*Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 334-35-90.*

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru