



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 1

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диасенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/1/1*

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 1

Diasens
ТУ BY 191655593.010-2023

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	3
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	3
1.3. Противооконтаминационные меры	4
1.4. Безопасность реагентов	4
2. Комплектация	4
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	5
3.1. Перечень основного оборудования и вспомогательных материалов	5
3.2. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на центрифуге в пробирках	5
3.3. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках	6
3.4. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколоночных планшетах	6
3.5. Дополнительное оборудование при выделении в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах	6
4. Методы исследования	6
4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на центрифуге в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл	7
4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл	8
4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколоночных планшетах	9
4.4. Протоколы выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций	10
4.4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах (96 и менее образцов)	10
4.4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах (16 / 32 и менее образцов)	11
5. Возможные проблемы и их решение	12
6. Условия хранения и транспортировки	13
6.1. Срок годности	13
6.2. Транспортирование	13
6.3. Хранение	13
6.4. Гарантии производителя	13
7. Условные обозначения	14

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
«Диасенс»	производственное унитарное предприятие «Диасенс»
РНК	рибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновые кислоты
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновая кислота
ГЭ	геномный эквивалент
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ОКЭ	отрицательный контроль экстракции
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
СИЗ	средство индивидуальной защиты
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта (в т. ч. соскоб шейки матки и цервикального канала в транспортной среде для жидкостной цитологии), респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей, ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот могут применяться, как в ручном режиме выделения НК, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

Чистота выделения НК составляет не менее 1,6 соотношения A260/280

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Магнит» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный

образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будут использоваться реагенты, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.
- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Магнит» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. Выделение можно проводить в ручном режиме (на магнитном штативе или на центрифуге), и в автоматическом режиме с использованием открытых роботизированных станций.

Выделение суммарной РНК/ДНК реагентами «Diasens Магнит» основано на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевого буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР, ПЦР-РВ и ОТ-ПЦР.

«Diasens Магнит» комплект 1, рассчитан на проведение 100 исследований, комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. «Diasens Магнит» комплект 1

Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1 шт	1 мл
2. Сорбирующий раствор	1 шт	25 мл
3. Промывочный раствор 1	1 шт	35 мл
4. Промывочный раствор 2	1 шт	30 мл
5. Буфер для элюции	1 шт	15 мл
6. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

Оптимально подходит для ручного метода выделения из различного клинического материала. Подходит как для работы с магнитным штативом, так и с центрифугой. Так же при наличии необходимых расходных материалов может применяться на открытых роботизированных станциях. Принцип действий при использовании на открытых роботизированных станциях аналогичен описанному для комплекта 2.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

3.1 Перечень основного оборудования и вспомогательных материалов:

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников.

3.2 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на центрифуге в пробирках:

- твердотельный термостат или термошейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2,0 мл со скоростью вращения не менее 13 000 об/мин;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.3 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках:

- твердотельный термостат или термошейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- штатив магнитный для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.4 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколоночном планшете:

- центрифуга с ротором для глубоколоночных планшетов;
- термошейкер для глубоколоночных планшетов с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- штатив магнитный для глубоколоночных планшетов;
- планшеты глубоколоночные
- пленка или фольга для заклеивания планшетов;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.5 Дополнительное оборудование при выделении в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах:

- Роботизированная автоматическая станция с возможностью работы с магнитными частицами и обрабатываемым объемом 20 – 1000 мкл;
- планшеты глубоколоночные;
- гребенки для глубоколоночных планшетов.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортировке, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

Выделение можно проводить как в ручном (на магнитном штативе или центрифуге), так и в автоматическом режиме. Протоколы выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

ВНИМАНИЕ! Смесь из Магнитного сорбента и Сорбирующего раствора хранится не более 24 ч без потери эффективности выделения.

4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на центрифуге в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку **250 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО»** (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по **100 мкл исследуемого образца**. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **10 минут** при температуре 65°C (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **13 000 об/мин**.
6. Полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
7. Добавить **350 мкл Промывочного раствора 1**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **13 000 об/мин**.
8. Повторить шаг 6.
9. Добавить **300 мкл Промывочного раствора 2**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **13 000 об/мин**.
10. Повторить шаг 6.
11. Убедиться, что Промывочный раствор 2 удален полностью и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.
12. Внести **100 мкл Буфера для элюции** в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **5 минут** при **80°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
13. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **13 000 об/мин**.
14. Отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку **250 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО»** (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по **100 мкл исследуемого образца**. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **10 минут** при температуре 65°C (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив.
6. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
7. Добавить **350 мкл Промывочного раствора 1**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратковременным центрифугированием.
8. Повторить шаг 6.
9. Добавить **300 мкл Промывочного раствора 2**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратковременным центрифугированием.
10. Повторить шаг 6.
11. Убедиться, что Промывочный раствор 2 удален полностью и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.
12. Внести **100 мкл Буфера для элюции** в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **5 минут** при **80°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
13. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив.
14. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколоночных планшетах

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую лунку планшета 250 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО (при его использовании)».
3. В каждую лунку планшета внести по 100 мкл исследуемого образца. При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний и инкубировать в термошейкере в течение 10 минут при температуре 65°C.
5. После инкубации осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить планшет на магнитный штатив для глубоколоночных планшетов на 96 образцов.
6. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30–40 сек.), полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром. Снять глубоколоночный планшет с магнитного штатива и поставить на рабочую поверхность.
7. Добавить 350 мкл Промывочного раствора 1 в каждую лунку.
8. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний, перемешать в термошейкере при комнатной температуре и осадить капли кратковременным центрифугированием. Поместить планшет на магнитный штатив.
9. Повторить шаг 6.
10. Добавить 300 мкл Промывочного раствора 2 в каждую лунку.
11. Повторить шаги 8 и 6.
12. Убедиться, что Промывочный раствор 2 удален полностью и инкубировать планшет при комнатной температуре в течение 60 секунд.
13. Внести 100 мкл Буфера для элюции в каждую лунку.
14. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний и инкубировать в термошейкере в течение 5 минут при 80°C.
15. После инкубации осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить планшет на магнитный штатив.

16. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30–40 сек.), отобрать элюат и перенести в чистый глубоколоночный планшет (при необходимости хранения перенести элюат в чистые пробирки).

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.4. Протоколы выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций

4.4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах (96 и менее образцов)

1. Включить роботизированную станцию.
2. Запрограммировать прибор согласно протоколу выделения, указанному в п. 4.2 – 4.3 и руководству по эксплуатации роботизированной станции. Более подробная программа экстракции и пошаговое описание настройки прибора для первого запуска приведена в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail: perproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции). Возможно использование готового программного файла, разработанного УП «Диагенс».
3. Подготовить необходимое количество глубоколоночных планшетов (4 для реагентов и +1 для гребенок при необходимости, следуйте руководству по эксплуатации прибора).
4. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
5. Внести в лунки планшета реагенты в следующем количестве:

Таблица 3 – Заполнение глубоколоночных планшетов реагентами

Этап	Реагент	Объем, µl
Лизис	Сорбирующий раствор	250
	Магнитный сорбент	10
Промывка 1	Промывочный раствор 1	350
Промывка 2	Промывочный раствор 2	300
Элюция	Буфер для элюции	100

*В случае одновременного проведения 48 и более выделений рекомендуется приготовить премикс из расчета 250 мкл Сорбирующего раствора + 10 мкл Магнитного сорбента + 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО (при его использовании)». При расчете учитывать запас – на 1 образец больше. Полученный премикс тщательно перемешать. При внесении в лунки планшета следить за гомогенностью магнитного сорбента в премиксе. Данная смесь хранится не более 24ч при температуре 2–8°C.

6. В каждую используемую лунку планшета №1 внести по 100 мкл исследуемого образца и по 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО (при его использовании)». При

необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.

- Загрузить планшеты с реагентами и гребенку в автоматическую станцию согласно программе выделения.
- Запустить программу выделения.
- После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшет с элюатом для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах (16 / 32 и менее образцов)

- Включить роботизированную станцию.
- Запрограммировать прибор согласно протоколу выделения, указанному в п. 4.2 – 4.3 и руководству по эксплуатации роботизированной станции. Более подробная программа экстракции и пошаговое описание настройки прибора для первого запуска приведена в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции). Возможно использование готового программного файла, разработанного УП «Диасенс».
- Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
- Внести в лунки планшета реагенты. При внесении Сорбирующего раствора и Буфера для элюции необходимо учитывать расположение термоблоков в приборе в соответствии с руководством по эксплуатации роботизированной станции.
- Внести в лунки планшета реагенты в следующем количестве:

Таблица 3 – Заполнение столбцов глубоколоночного планшета реагентами

Этап	Реагент	Объем, ul
Лизис	Сорбирующий раствор	250
	Магнитный сорбент	10
Промывка 1	Промывочный раствор 1	350
Промывка 2	Промывочный раствор 2	300
Элюция	Буфер для элюции	100

**Номера столбцов могут меняться в зависимости от положения термоблоков в роботизированных станциях. Следуйте инструкции к прибору либо обратитесь к адаптационным методикам.*

- В каждую лунку рядов, содержащих Сорбирующий раствор и Магнитный сорбент, внести по 100 мкл исследуемого образца и по 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании). При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
- Загрузить планшет/планшеты с реагентами в автоматическую станцию, загрузить гребенки.

- Запустить программу выделения.
- После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшет для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате
 - Разделение реагентов на фракции. Компоненты Сорбирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Сорбирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.
 - Неполный лизис. Нарушение условий хранения и транспортировки. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием новых образцов и свежих реагентов.
 - Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме. Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо повторить выделение, строго соответствуя протоколу выделения нуклеиновых кислот.
 - Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме. Неправильное программирование прибора, неправильная загрузка либо использование сторонней программы выделения приведет к нарушению протокола выделения и низкому выходу или отсутствию нуклеиновых кислот в элюате. Необходимо запрограммировать и загружать планшеты в прибор в соответствии с данной инструкцией и руководством изготовителя роботизированной станции.
 - Необходима адаптация пробоподготовки при работе с транспортной средой для жидкостной цитологии. Обратитесь к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Адаптация пробоподготовки).
- Ингибирование ПЦР.
 - Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе. Необходимо повторить выделение.
 - Попадание в ПЦР-смесь магнитных частиц может привести к ингибированию ПЦР. При внесении нуклеиновых кислот необходимо отслеживать попадание магнитных частиц в реакционную смесь, при их наличии – удалить.
- Некачественный отбор биоматериала. Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции человеческого материала при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортировка

Транспортировка набора осуществляется при температуре от 2 до 25 °С любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортируемый с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец хранить при температуре от 2 до 8 °С. Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдения всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диасенс»:

E-mail: pcrproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		



СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	3
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	3
1.3. Противооконтаминационные меры	4
1.4. Безопасность реагентов	4
2. Комплектация	4
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	6
3.1. Перечень основного оборудования и вспомогательных материалов	6
3.2. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на центрифуге в пробирках	6
3.3. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках	6
3.4. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в глубоководных планшетах	6
3.5. Дополнительное оборудование при выделении в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоководных планшетах	7
4. Методы исследования	7
4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на центрифуге в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл	7
4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл	8
4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в глубоководных планшетах	9
4.4. Протоколы выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций	10
4.4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоководных планшетах (96 и менее образцов)	10
5. Возможные проблемы и их решение	11
6. Условия хранения и транспортировки	12
6.1. Срок годности	12
6.2. Транспортирование	12
6.3. Хранение	12
6.4. Гарантии производителя	13
7. Условные обозначения	13

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 2

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диагенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/1/2*

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
«Диасенс»	производственное унитарное предприятие «Диасенс»
РНК	рибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновые кислоты
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновая кислота
ГЭ	геномный эквивалент
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ОКЭ	отрицательный контроль экстракции
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
СИЗ	средство индивидуальной защиты
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта (в т. ч. соскоб шейки матки и цервикального канала в транспортной среде для жидкостной цитологии), респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей, ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот могут применяться, как в ручном режиме выделения НК, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

Чистота выделения НК составляет не менее 1,6 соотношения A260/280

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Магнит» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению

набора реагентов для проведения амплификации. внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будут использоваться реагенты, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.
- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Магнит» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. Выделение можно проводить в ручном режиме (на магнитном штативе или на центрифуге), и в автоматическом режиме с использованием открытых роботизированных станций.

Выделение суммарной РНК/ДНК реагентами «Diasens Магнит» основано на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевого буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР, ПЦР-РВ и ОТ-ПЦР.

«Diasens Магнит» комплект 2, рассчитан на проведение 96 исследований, комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. «Diasens Magnet» комплект 2

Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1 шт	1 мл
2. Сорбирующий раствор	1 шт	25 мл
3. Промывочный раствор 1	1 шт	35 мл
4. Промывочный раствор 2	1 шт	30 мл
5. Буфер для элюции	1 шт	15 мл
6. Буфер для хранения*	1 шт	15 мл
7. Гребенка для магнитных стержней	1 шт	1 компл.
8. Планшеты на 96 лунок	5 шт	1 компл.
9. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

Оптимально подходит для ручного метода выделения из различного клинического материала. Подходит как для работы с магнитным штативом, так и с центрифугой. Так же при наличии необходимых расходных материалов может применяться на открытых роботизированных станциях, приведенных в таблице 2.

Совместимость вариантов комплекта 2 с открытыми роботизированными станциями приведена в таблице 2.

Таблица 2. Совместимость вариантов комплекта 2 с роботизированными станциями

Производитель	Модель	Каталожный номер
Производственное унитарное предприятие «Диагенс»	DS-Pure 96	010/1/2a
Производственное унитарное предприятие «Диагенс»	DS-Pure 32	010/1/2e
Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd	GenePure Pro 96 (NPA-96, NPA 96E)	010/1/2b
	GenePure Pro 96T (NPA-96T)	
Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd	GenePure Pro (NPA-32P, NPA-32E, NPA-32+)	010/1/2f
Biobase Biodustry (Shandong) Co. Ltd	BNP96, BK-HS96	010/1/2a
Biobase Biodustry (Shandong) Co. Ltd	BNP32, BNP48, BK-HS32	010/1/2e
BioTeke Corporation (wuxi) Co., Ltd.	Au-1001-32, Au1001S	010/1/2g
BioTeke Corporation (wuxi) Co., Ltd.	Au-1001-96	010/1/2c
Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd.	Auto-Pure 96	010/1/2d
Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd.	Auto-Pure 16A, Auto-Pure 32A	010/1/2h
Yantai Addcare Bio-Tech Limited Company	Nexor 96	010/1/2d
Yantai Addcare Bio-Tech Limited Company	Nexor 32	010/1/2i
Thermo Fisher Scientific	KingFisher	010/1/2d

При необходимости возможна адаптация протокола для роботизированных станций, производства Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd., Guangzhou BayBio Bio-tech Co., Ltd., Xiamen Zeesan Biotech Co, Ltd., Xi'an Tianlong Science and Technology Co., Ltd.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

3.1 Перечень основного оборудования и вспомогательных материалов:

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников.

3.2 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на центрифуге в пробирках:

- твердотельный термостат или термощейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
 - микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2,0 мл со скоростью вращения не менее 13 000 об/мин;
 - аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
 - одноразовые наконечники без фильтра*;
- *не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.3 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках:

- твердотельный термостат или термощейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
 - штатив магнитный для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
 - аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
 - одноразовые наконечники без фильтра*;
- *не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.4 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколуночном планшете:

- центрифуга с ротором для глубоколуночных планшетов;
- термощейкер для глубоколуночных планшетов с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- штатив магнитный для глубоколуночных планшетов;
- планшеты глубоколуночные

- пленка или фольга для заклеивания планшетов;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.5. Дополнительное оборудование при выделении в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах:

- Роботизированная автоматическая станция с возможностью работы с магнитными частицами и обрабатываемым объемом 20 – 1000 мкл;
- планшеты глубоколоночные;
- гребенки для глубоколоночных планшетов.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

Выделение можно проводить как в ручном (на магнитном штативе или центрифуге), так и в автоматическом режиме. Протоколы выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

ВНИМАНИЕ! Смесь из Магнитного сорбента и Сорбирующего раствора хранится не более 24 ч без потери эффективности выделения.

4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на центрифуге в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку 250 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по 100 мкл исследуемого образца. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.

4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термощейкере в течение 10 минут при температуре 65°C (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить магнитный сорбент в течение 30 сек при 13 000 об/мин.
6. Полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
7. Добавить 350 мкл Промывочного раствора 1, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить магнитный сорбент в течение 30 сек при 13 000 об/мин.
8. Повторить шаг 6.
9. Добавить 300 мкл Промывочного раствора 2, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить магнитный сорбент в течение 30 сек при 13 000 об/мин.
10. Повторить шаг 6.
11. Убедиться, что Промывочный раствор 2 удален полностью и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.
12. Внести 100 мкл Буфера для элюции в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термощейкере в течение 5 минут при 65°C (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
13. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить магнитный сорбент в течение 30 сек при 13 000 об/мин.
14. Отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку 250 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по 100 мкл исследуемого образца. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.

- Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термощейкере в течение **10 минут** при температуре **65°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
- После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив.
- Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
- Добавить **350 мкл Промывочного раствора 1**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратковременным центрифугированием.
- Повторить шаг 6.
- Добавить **300 мкл Промывочного раствора 2**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратковременным центрифугированием.
- Повторить шаг 6.
- Убедиться, что **Промывочный раствор 2** удален полностью и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.
- Внести **100 мкл Буфера** для элюции в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термощейкере в течение **5 минут** при **65°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
- После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив.
- Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколоночных планшетах

- Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 60°C до полного их растворения.
- Добавить в каждую лунку планшета **250 мкл Сорбирующего раствора**, **10 мкл Магнитного сорбента** и **10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО»** (при его использовании).
- В каждую лунку планшета внести по **100 мкл исследуемого образца**. При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.

- Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний и инкубировать в термощейкере в течение **10 минут** при температуре **65°C**.
- После инкубации осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить планшет на магнитный штатив для глубоколоночных планшетов на 96 образцов.
- Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром. Снять глубоколоночный планшет с магнитного штатива и поставить на рабочую поверхность.
- Добавить **350 мкл Промывочного раствора 1** в каждую лунку.
- Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний, перемешать в термощейкере при комнатной температуре и осадить капли кратковременным центрифугированием. Поместить планшет на магнитный штатив.
- Повторить шаг 6.
- Добавить **300 мкл Промывочного раствора 2** в каждую лунку.
- Повторить шаги 8 и 6.
- Убедиться, что **Промывочный раствор 2** удален полностью и инкубировать планшет при комнатной температуре в течение 60 секунд.
- Внести **100 мкл Буфера** для элюции в каждую лунку.
- Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний и инкубировать в термощейкере в течение **5 минут** при **65°C**.
- После инкубации осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить планшет на магнитный штатив.
- Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), отобрать элюат и перенести в чистый глубоколоночный планшет (при необходимости хранения перенести элюат в чистые пробирки).

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.4. Протоколы выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций

4.4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах (96 и менее образцов)

- Включить роботизированную станцию.
- Запрограммировать прибор согласно протоколу выделения, указанному в п. 4.2 – 4.3 и руководству по эксплуатации роботизированной станции. Более подробная программа экстракции и пошаговое описание настройки прибора для первого запуска приведена в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail:

perproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции). Возможно использование готового программного файла, разработанного УП «Диасенс».

3. Подготовить необходимое количество глубоководных планшетов (4 для реагентов и +1 для гребенок при необходимости, следуйте руководству по эксплуатации прибора).
4. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
5. Внести в лунки планшета реагенты в следующем количестве:

Таблица 3 – Заполнение глубоководных планшетов реагентами

Этап	Реагент	Объем, ul
Лизис	Сорбирующий раствор	250
	Магнитный сорбент	10
Промывка 1	Промывочный раствор 1	350
Промывка 2	Промывочный раствор 2	300
Элюция	Буфер для элюции	100

**В случае одновременного проведения 48 и более выделений рекомендуется приготовить премикс из расчета 250 мкл Сорбирующего раствора + 10 мкл Магнитного сорбента + 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО (при его использовании)». При расчете учитывать запас – на 1 образец больше. Полученный премикс тщательно перемешать. При внесении в лунки планшета следить за гомогенностью магнитного сорбента в премиксе. Данная смесь хранится не более 24ч при температуре 2–8°C.*

6. В каждую используемую лунку планшета №1 внести по 100 мкл исследуемого образца и по 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО (при его использовании)». При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
7. Загрузить планшеты с реагентами и гребенку в автоматическую станцию согласно программе выделения.
8. Запустить программу выделения.
9. После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшет с элюатом для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате
 - Разделение реагентов на фракции. Компоненты Сорбирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Сорбирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.

- Неполный лизис. Нарушение условий хранения и транспортировки. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием новых образцов и свежих реагентов.
- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме. Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо повторить выделение, строго соответствуя протоколу выделения нуклеиновых кислот.
- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме. Неправильное программирование прибора, неправильная загрузка либо использование сторонней программы выделения приведет к нарушению протокола выделения и низкому выходу или отсутствию нуклеиновых кислот в элюате. Необходимо запрограммировать и загружать планшеты в прибор в соответствии с данной инструкцией и руководством изготовителя роботизированной станции.
- Необходима адаптация пробоподготовки при работе с транспортной средой для жидкостной цитологии. Обратитесь к производителю (e-mail: perproduction@diasens.by, тема: Адаптация пробоподготовки).
- Ингибирование ПЦР.
 - Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе. Необходимо повторить выделение.
 - Попадание в ПЦР-смесь магнитных частиц может привести к ингибированию ПЦР. При внесении нуклеиновых кислот необходимо отслеживать попадание магнитных частиц в реакционную смесь, при их наличии – удалить.
- Некачественный отбор биоматериала. Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции человеческого материала при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °C любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °C в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец и буфер для хранения хранить при температуре от 2 до 8°C. Не

допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантия производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдении всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диасенс»:

E-mail: pcrproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения п-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 3

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диагенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/1/3*

* - дополнительный символ. для уточнения комплектации

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Назначение	2
1.1.	Функциональные характеристики	3
1.2.	Контроль качества реагентов	3
1.3.	Противоконтаминационные меры	3
1.4.	Безопасность реагентов	3
2.	Комплектация	4
3.	Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	5
4.	Методы исследования	5
5.	Возможные проблемы и их решение	6
6.	Условия хранения и транспортировки	6
6.1.	Срок годности	7
6.2.	Транспортирование	7
6.3.	Хранение	7
6.4.	Гарантии производителя	7
7.	Условные обозначения	8

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
«Диагенс»	производственное унитарное предприятие «Диагенс»
РНК	рибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновые кислоты
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновая кислота
ГЭ	геномный эквивалент
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ОКЭ	отрицательный контроль экстракции
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
СИЗ	средство индивидуальной защиты
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта (в т. ч. соскоб шейки матки и цервикального канала в транспортной среде для жидкостной цитологии), респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей, ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот применяются совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

Чистота выделения НК составляет не менее 1,6 соотношения A260/280

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Магнит» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будут использоваться реактивы, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.

- Мутагенное действие отсутствует.

- Репродуктивная токсичность отсутствует.

- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Магнит» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. Выделение необходимо проводить в автоматическом режиме с использованием открытых роботизированных станций.

Выделение суммарной РНК/ДНК реагентами «Diasens Магнит» основано на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевого буфера. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР, ПЦР-РВ и ОТ-ПЦР.

«Diasens Магнит» комплект 3, рассчитан на проведение 96 исследований, комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. «Diasens Магнит» комплект 3

Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Сорбирующий раствор с магнитным сорбентом	1 шт	96x0,25 мл
2. Промывочный раствор 1	1 шт	96x0,35 мл
3. Промывочный раствор 2	1 шт	96x0,3 мл
4. Буфер для элюции	1 шт	96x0,1 мл
5. Буфер для хранения*	1 шт	96x0,3 мл
6. Гребенка для магнитных стержней	1 шт	
7. Планшеты на 96 лунок	5 шт	
8. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

В данной комплектации реагенты для выделения предварительно разлиты по лункам планшета и запаяны сверху металлической фольгой. Оптимально подходит для автоматического метода выделения из различного клинического материала, такого как: мазки, соскобы и отделяемых слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов (в том числе мазков из носоглотки и ротоглотки). Подходит для открытых роботизированных станций. Совместимость вариантов комплекта 3 с открытыми роботизированными станциями приведена в таблице 2.

Производитель	Модель	Каталожный номер
Производственное унитарное предприятие «Диасенс»	DS-Pure 96	010/1/3a и 010/1/3a0
Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd	GenePure Pro 96 (NPA-96, NPA 96E) GenePure Pro 96T (NPA-96T)	010/1/3b и 010/1/3b0
Biobase Biodustry (Shandong) Co. Ltd	BNP96, BK-HS96	010/1/3a и 010/1/3a0
BioTeke Corporation (wuxi) Co., Ltd.	Au-1001-32, Au1001S	010/1/3c и 010/1/3c0
BioTeke Corporation (wuxi) Co., Ltd.	Au-1001-96	010/1/3c и 010/1/3c0
Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd.	Auto-Pure 96	010/1/3d и 010/1/3d0
Yantai Addcare Bio-Tech Limited Company	Nexor 96	010/1/3d и 010/1/3d0
Thermo Fisher Scientific	KingFisher	010/1/3d и 010/1/3d0

При необходимости возможна адаптация протокола для роботизированных станций, производства Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd., Guangzhou BayBio Bio-tech Co., Ltd., Xiamen Zeesan Biotech Co. Ltd., Xi'an Tianlong Science and Technology Co., Ltd.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

- Ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников;
- роботизированная автоматическая станция с возможностью работы с магнитными частицами и обрабатываемым объемом 20 – 1000 мкл.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

Выделение нужно проводить в автоматическом режиме. Протокол выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

1. Включить роботизированную станцию.
2. Запрограммировать прибор согласно пошаговому описанию настройки прибора для первого запуска, указанному в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции). Возможно использование готового программного файла, разработанного УП «Дiasens».
3. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое планшета при 65°C до полного их растворения.
4. В каждую лунку планшета с Сорбирующим раствором внести по 100 мкл исследуемого образца и по 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании).

При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.

5. Загрузить планшеты с реагентами и гребенку в автоматическую станцию согласно программе выделения, со всех планшетов снять защитные пленки.
6. Запустить программу выделения.
7. После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшеты с элюатом для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток / ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате
 - Разделение реагентов на фракции. Компоненты Сорбирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Сорбирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.
 - Неполный лизис. Нарушение условий хранения и транспортировки. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием новых образцов и свежих реагентов.
 - Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме. Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо повторить выделение, строго соответствуя протоколу выделения нуклеиновых кислот.
 - Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме. Неправильное программирование прибора, неправильная загрузка либо использование сторонней программы выделения приведет к нарушению протокола выделения и низкому выходу или отсутствию нуклеиновых кислот в элюате. Необходимо программировать и загружать планшеты в прибор в соответствии с данной инструкцией и руководством изготовителя роботизированной станции.
 - Необходима адаптация пробоподготовки при работе с транспортной средой для жидкостной цитологии. Обратитесь к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Адаптация пробоподготовки).
- Ингибирование ПЦР.
 - Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе. Необходимо повторить выделение.
 - Попадание в ПЦР-смесь магнитных частиц может привести к ингибированию ПЦР. При внесении нуклеиновых кислот необходимо отслеживать попадание магнитных частиц в реакционную смесь, при их наличии – удалить.

- Некачественный отбор биоматериала. Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции человеческого материала при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °С любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец и буфер для хранения хранить при температуре от 2 до 8 °С. Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдении всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диасенс»:

E-mail: pcrproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 4

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диасенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с,
район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7,
помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/1/4*

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 4

Diasens

ТУ BY 191655593.010-2023

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	3
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	3
1.3. Противоэпидемиологические меры	4
1.4. Безопасность реагентов	4
2. Комплектация	4
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	5
3.1. Перечень основного оборудования и вспомогательных материалов	5
3.2. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на центрифуге в пробирках	5
3.3. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках	6
3.4. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в глубоководных планшетах	6
3.5. Дополнительное оборудование при выделении в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоководных планшетах	6
4. Методы исследования	6
4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на центрифуге в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл	7
4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл	8
4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в глубоководных планшетах	9
4.4. Протоколы выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций	10
4.4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоководных планшетах (96 и менее образцов)	10
4.4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоководных планшетах (16 / 32 и менее образцов)	12
5. Возможные проблемы и их решение	13
6. Условия хранения и транспортировки	14
6.1. Срок годности	14
6.2. Транспортирование	14
6.3. Хранение	14
6.4. Гарантии производителя	14
7. Условные обозначения	15

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
«Диасенс»	производственное унитарное предприятие «Диасенс»
РНК	рибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновые кислоты
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновая кислота
ГЭ	геномный эквивалент
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ОКЭ	отрицательный контроль экстракции
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
СИЗ	средство индивидуальной защиты
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта (в т. ч. соскоб шейки матки и цервикального канала в транспортной среде для жидкостной цитологии), респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей (в т. ч. цельной крови), ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот могут применяться, как в ручном режиме выделения НК, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волны 260 и 280 нм (260/280).

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Магнит» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО»

проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.
- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Магнит» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. Выделение можно проводить в ручном режиме (на магнитном штативе или на центрифуге), и в автоматическом режиме с использованием открытых роботизированных станций.

Выделение суммарной РНК/ДНК реагентами «Diasens Магнит» основано на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевого буфера. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР, ПЦР-РВ и ОТ-ПЦР.

«Diasens Магнит» комплект 4, рассчитан на проведение 100 исследований, комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. «Diasens Магнит» комплект 4

Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1 шт	1 мл
2. Сорбирующий раствор	1 шт	50 мл
3. Промывочный раствор 1	1 шт	70 мл
4. Промывочный раствор 2	1 шт	70 мл
5. Буфер для элюции	1 шт	15 мл
6. Буфер для хранения*	1 шт	15 мл
7. Концентрирующий раствор	1 шт	1 мл
8. Лизирующий раствор	1 шт	70 мл
9. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

Оптимально подходит для ручного метода выделения из различного клинического материала. Подходит как для работы с магнитным штативом, так и с центрифугой. Так же при наличии необходимых расходных материалов может применяться на открытых роботизированных станциях. Принцип действий при использовании на открытых роботизированных станциях аналогичен описанному для комплекта 5.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

3.1 Перечень основного оборудования и вспомогательных материалов:

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников.

3.2 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на центрифуге в пробирках:

- твердотельный термостат или термошейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2,0 мл со скоростью вращения не менее 13 000 об/мин;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.3 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках:

- твердотельный термостат или термошейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- штатив магнитный для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.4 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколоночных планшетах:

- центрифуга с ротором для глубоколоночных планшетов;
- термошейкер для глубоколоночных планшетов с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- штатив магнитный для глубоколоночных планшетов;
- планшеты глубоколоночные
- пленка или фольга для заклеивания планшетов;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.5 Дополнительное оборудование при выделении в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах:

- Роботизированная автоматическая станция с возможностью работы с магнитными частицами и обрабатываемым объемом 20 – 1000 мкл;
- планшеты глубоколоночные;
- гребенки для глубоколоночных планшетов.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

Выделение можно проводить как в ручном (на магнитном штативе или центрифуге), так и в автоматическом режиме. Протоколы выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

ВНИМАНИЕ! Смесь из Магнитного сорбента и Сорбирующего раствора хранится не более 24 ч без потери эффективности выделения.

Основной протокол исследования приведен п. 4.1 – 4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот зависит от используемого биоматериала. В случае использования «сложного» биоматериала для увеличения выхода нуклеиновых кислот, а также более удобной процедуры выделения нуклеиновых кислот рекомендуем обратиться к методическим рекомендациям по работе с биологическим материалом и адаптационным методикам.

4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на центрифуге в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку 500 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента, 10 мкл Концентрирующего раствора и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по 100 мкл исследуемого образца. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение 10 минут при температуре 65°C (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить магнитный сорбент в течение 30 сек при 13 000 об/мин.
6. Полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
7. Добавить 700 мкл Лизирующего раствора, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить магнитный сорбент в течение 30 сек при 13 000 об/мин.
8. Повторить шаг 6.
9. Добавить 700 мкл Промывочного раствора 1, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить магнитный сорбент в течение 30 сек при 13 000 об/мин.
10. Повторить шаг 6.
11. Добавить 700 мкл Промывочного раствора 2, осадить магнитный сорбент в течение 30 сек при 13 000 об/мин.

ВНИМАНИЕ! После добавления Промывочного раствора 2 содержимое пробирок не перемешивать.

12. Повторить шаг 6.

13. Убедиться, что Промывочный раствор 2 удален полностью и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.

14. Внести 100 мкл Буфера для элюции в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение 5 минут при 80 °С (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).

15. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить магнитный сорбент в течение 30 сек при 13 000 об/мин.

16. Отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку 500 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента, 10 мкл Концентрирующего раствора и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по 100 мкл исследуемого образца. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение 10 минут при температуре 65°C (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив.
6. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
7. Добавить 700 мкл Лизирующего раствора, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратковременным центрифугированием.
8. Повторить шаг 6.

9. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 1**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратковременным центрифугированием.
10. Повторить шаг 6.
11. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 2**.
ВНИМАНИЕ! После добавления **Промывочного раствора 2** содержимое пробирок не перемешивать.
12. Повторить шаг 6.
13. Убедиться, что **Промывочный раствор 2** удален полностью и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.
14. Внести **100 мкл Буфера для элюции** в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термощейкере в течение **5 минут** при **80 °С** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
15. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив.
16. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°С или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколоночных планшетах

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°С до полного их растворения.
2. Добавить в каждую лунку планшета **500 мкл Сорбирующего раствора**, **10 мкл Магнитного сорбента**, **10 мкл Концентрирующего раствора** и **10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО»** (при его использовании).
3. В каждую лунку планшета внести по **100 мкл исследуемого образца**. При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний и инкубировать в термощейкере в течение **10 минут** при температуре **65°С**.
5. После инкубации осадить капли кратковременным центрифугированием/встряхиванием и поместить планшет на магнитный штатив для глубоколоночных планшетов на 96 образцов.
6. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с

- фильтром. Снять глубоколоночный планшет с магнитного штатива и поставить на рабочую поверхность.
7. Добавить **700 мкл Лизирующего раствора**, в каждую лунку.
 8. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний, перемешать в термощейкере при комнатной температуре и осадить капли кратковременным центрифугированием/встряхиванием. Поместить планшет на магнитный штатив.
 9. Повторить шаг 6.
 10. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 1** в каждую лунку.
 11. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний, перемешать в термощейкере при комнатной температуре и осадить капли кратковременным центрифугированием/встряхиванием. Поместить планшет на магнитный штатив.
 12. Повторить шаг 6.
 13. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 2** в каждую лунку.
ВНИМАНИЕ! После добавления **Промывочного раствора 2** содержимое пробирок не перемешивать.
 14. Повторить шаг 6.
 15. Убедиться, что **Промывочный раствор 2** удален полностью и инкубировать планшет при комнатной температуре в течение 60 секунд.
 16. Внести **100 мкл Буфера для элюции** в каждую лунку.
 17. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний и инкубировать в термощейкере в течение **5 минут** при **80 °С**.
 18. После инкубации осадить капли кратковременным центрифугированием/встряхиванием и поместить планшет на магнитный штатив.
 19. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), отобрать элюат и перенести в чистый глубоколоночный планшет (при необходимости хранения перенести элюат в чистые пробирки).
Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°С или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.4. Протоколы выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций

4.4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах (96 и менее образцов)

1. Подготовить необходимое количество глубоколоночных планшетов (5 для реагентов и +1 для гребенок при необходимости, следуйте руководству по эксплуатации прибора).

- Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
- Добавить в каждую лунку планшета №1 500 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента, 10 мкл Концентрирующего раствора и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании) *.

*В случае одновременного проведения 48 и более выделений рекомендуется приготовить премикс из расчета 500 мкл Сорбирующего раствора + 10 мкл Магнитного сорбента + 10 мкл Концентрирующего раствора + 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании). При расчете учитывать запас – на 1 образец больше. Полученный премикс тщательно перемешать. При внесении в лунки планшета следить за однородностью магнитного сорбента в премиксе. Данная смесь хранится не более 24ч при температуре 2–8°C.

- В каждую лунку планшета №1 внести по 100 мкл исследуемого образца. При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
- В планшет №2 в каждую лунку добавить по 700 мкл Лизирующего раствора, в планшет №3 в каждую лунку добавить по 700 мкл Промывочного раствора 1, в планшет №4 внести в каждую лунку по 700 мкл Промывочного раствора 2, в планшет №5 добавить по 100 мкл в каждую лунку Буфера для элюции.
- Включить автоматическую станцию.
- Загрузить планшеты с реагентами и гребенку в автоматическую станцию согласно программе выделения.
- Запустить программу выделения.

Стандартное программирование автоматических станций для выделения приведено в таблице 2. Данную программу можно адаптировать под любой прибор. Готовые программы для различных приборов приведены в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail: perproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции).

Таблица 2 – Стандартное программирование автоматических станций для выделения.

№ шага	Этап	Объем, μ л	Время ожидания	Время перемешивания	Скорость перемешивания	Время сбора магнитных частиц	Температура термоблока
1	Лизис	700	-	10 мин	Средняя	30 сек	Вкл, 65°C
2	Лизис 2	700	-	Минимум 30 Сек*	Быстрая	30 сек	Выкл
3	Промывка 1	700	-	Минимум 30 сек*	Быстрая	30 сек	Выкл
4	Промывка 2	700	-	0	-	30 сек	Выкл
5	Элюирование	100	1 мин	5 мин	Медленная	60 сек	Вкл, 80°C

*При невозможности установки данного значения рекомендуем установить время перемешивания 1 мин.

Описание параметров:

- Номер шага – последовательность выполнения шага программы.
- Этап – наименование этапа, происходящего в данном шаге.
- Время ожидания – время ожидания перед началом перемешивания.
- Время перемешивания – время перемешивания реагентов в планшете.
- Скорость перемешивания – скорость движения гребенки для перемешивания жидкости в планшете.
- Время сбора магнитных частиц – время нахождения магнитных стержней внутри лунок для сбора магнитных частиц.
- Температура термоблока – температура термоблока, которая устанавливается в течение времени, заданного в параметре «Время перемешивания».

- После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшеты с элюатом для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколуночных планшетах (16 / 32 и менее образцов)

- Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
- Добавить в каждую лунку реагенты. Таблица 3 является универсальной для заполнения столбцов реагентами.

Таблица 3 – Заполнение столбцов глубоколуночного планшета реагентами

Номер шага	Столбец планшета	Реагент	Объем, μ л
1	1, 7	Сорбирующий раствор	500
		Магнитный сорбент	10
		Концентрирующий раствор	10
2	2, 8	Лизирующий раствор	700
3	3, 9	Промывочный раствор 1	700
4	4, 10	Промывочный раствор 2	700
5	5, 11*	Буфер для элюции	100

*Номера столбцов могут меняться в зависимости от положения термоблоков в роботизированных станциях.

- В каждую лунку рядов, содержащих Сорбирующий раствор и Магнитный сорбент, внести по 100 мкл исследуемого образца и по 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании). При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
- Включить автоматическую станцию.
- Загрузить планшет/планшеты с реагентами в автоматическую станцию, загрузить гребенки.
- Запустить программу выделения.

Стандартное программирование автоматических станций для выделения приведено в таблице 2. Данную программу можно адаптировать под любой прибор. Готовые программы для

различных приборов приведены в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции).

- После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшеты для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата в течение суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате
 - Разделение реагентов на фракции. Компоненты Сорбирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Сорбирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.
 - Неполный лизис. Нарушение условий хранения и транспортировки. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием новых образцов и свежих реагентов.
 - Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме. Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо повторить выделение, строго соответствуя протоколу выделения нуклеиновых кислот.
 - Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме. Неправильное программирование прибора, неправильная загрузка либо использование сторонней программы выделения приведет к нарушению протокола выделения и низкому выходу или отсутствию нуклеиновых кислот в элюате. Необходимо программировать и загружать планшеты в прибор в соответствии с данной инструкцией и руководством изготовителя роботизированной станции.
 - Необходима адаптация пробоподготовки при работе с транспортной средой для жидкостной цитологии. Обратитесь к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Адаптация пробоподготовки).
- Ингибирование ПЦР.
 - Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе. Необходимо повторить выделение.
 - Попадание в ПЦР-смесь магнитных частиц может привести к ингибированию ПЦР. При внесении нуклеиновых кислот необходимо отслеживать попадание магнитных частиц в реакционную смесь, при их наличии – удалить.
- Некачественный отбор биоматериала. Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции человеческого материала при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °C любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортируемый с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °C в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец и буфер для хранения хранить при температуре от 2 до 8°C. Концентрирующий раствор следует хранить при температуре от -20 до -16°C. Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдения всех условий транспортирования, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диагенс»:

E-mail: pcrproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Magnit»
комплект 5

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диагенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с,
район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7,
помещение № 162. 360

office@diasens.by
+375 17 320-63-10

Каталожный номер: 010/1/5*

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Magnit»
комплект 5

Diasens

ТУ BY 191655593.010-2023

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	3
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	4
1.3. Противоэпидемиологические меры	4
1.4. Безопасность реагентов	4
2. Комплектация	4
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	6
3.1. Перечень основного оборудования и вспомогательных материалов	6
3.2. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на центрифуге в пробирках	6
3.3. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках	6
3.4. Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в глубоководных планшетах	6
3.5. Дополнительное оборудование при выделении в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоководных планшетах	7
4. Методы исследования	7
4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на центрифуге в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл	7
4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл	8
4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в глубоководных планшетах	10
4.4. Протоколы выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций	11
4.4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоководных планшетах (96 и менее образцов)	11
4.4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоководных планшетах (16 / 32 и менее образцов)	12
5. Возможные проблемы и их решение	13
6. Условия хранения и транспортировки	14
6.1. Срок годности	14
6.2. Транспортирование	14
6.3. Хранение	14
6.4. Гарантии производителя	15
7. Условные обозначения	15

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
«Диагенс»	производственное унитарное предприятие «Диагенс»
РНК	рибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновые кислоты
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновая кислота
ГЭ	геномный эквивалент
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ОКЭ	отрицательный контроль экстракции
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
СИЗ	средство индивидуальной защиты
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта (в т. ч. соскоб шейки матки и цервикального канала в транспортной среде для жидкостной цитологии), респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей (в т. ч. цельной крови), ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот могут применяться, как в ручном режиме выделения НК, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Магнит» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противооконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.
- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Магнит» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. Выделение можно проводить в ручном режиме (на магнитном штативе или на центрифуге), и в автоматическом режиме с использованием открытых роботизированных станций.

Выделение суммарной РНК/ДНК реагентами «Diasens Магнит» основано на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей

элюцией в низкосолевого буфер. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР, ПЦР-РВ и ОТ-ПЦР.

«Diasens Магнит» комплект 5, рассчитан на проведение 96 исследований, комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. «Diasens Магнит» комплект 5

Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Магнитный сорбент	1 шт	1 мл
2. Сорбирующий раствор	1 шт	50 мл
3. Промывочный раствор 1	1 шт	70 мл
4. Промывочный раствор 2	1 шт	70 мл
5. Буфер для элюции	1 шт	15 мл
6. Буфер для хранения*	1 шт	15 мл
7. Концентрирующий раствор	1 шт	1 мл
8. Лизирующий раствор	1 шт	70 мл
9. Гребенка для магнитных стержней	1 шт	
10. Планшеты на 96 лунок	5 шт	
11. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

Оптимально подходит для ручного метода выделения из различного клинического материала. Подходит как для работы с магнитным штативом, так и центрифугой. Так же при наличии необходимых расходных материалов может применяться на открытых роботизированных станциях. Совместимость вариантов комплекта 5 с открытыми роботизированными станциями приведена в таблице 2.

Таблица 2. Совместимость вариантов комплекта 5 с роботизированными станциями

Производитель	Модель	Каталожный номер
Производственное унитарное предприятие «Диагенс»	DS-Pure 96	010/1/5a
Производственное унитарное предприятие «Диагенс»	DS-Pure 32	010/1/5e
Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd	GenePure Pro 96 (NPA-96, NPA 96E) GenePure Pro 96T (NPA-96T)	010/1/5b
Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd	GenePure Pro (NPA-32P, NPA-32E, NPA-32+)	010/1/5f
Biobase Biodustry (Shandong) Co. Ltd	BNP96, BK-HS96	010/1/5a
Biobase Biodustry (Shandong) Co. Ltd	BNP32, BNP48, BK-HS32	010/1/5e
BioTeke Corporation (wuxi) Co., Ltd.	Au-1001-32, Au1001S	010/1/5g
BioTeke Corporation (wuxi) Co., Ltd.	Au-1001-96	010/1/5c
Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd.	Auto-Pure 96	010/1/5d
Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd.	Auto-Pure 16A, Auto-Pure 32A	010/1/5h
Yantai Addcare Bio-Tech Limited Company	Nexor 96	010/1/5d
Yantai Addcare Bio-Tech Limited Company	Nexor 32	010/1/5i
Thermo Fisher Scientific	KingFisher	010/1/5d

При необходимости возможна адаптация протокола для роботизированных станций, производства Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd., Guangzhou BayBio Bio-tech Co., Ltd., Xiamen Zeesan Biotech Co, Ltd., Xi'an Tianlong Science and Technology Co., Ltd.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

3.1 Перечень основного оборудования и вспомогательных материалов:

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников.

3.2 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на центрифуге в пробирках:

- твердотельный термостат или термошейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2,0 мл со скоростью вращения не менее 13 000 об/мин;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.3 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках:

- твердотельный термостат или термошейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- штатив магнитный для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.4 Дополнительное оборудование при выделении в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколоночном планшете:

- центрифуга с ротором для глубоколоночных планшетов;
- термошейкер для глубоколоночных планшетов с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- штатив магнитный для глубоколоночных планшетов;
- планшеты глубоколоночные

- пленка или фольга для заклеивания планшетов;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

3.5. Дополнительное оборудование при выделении в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах:

- Роботизированная автоматическая станция с возможностью работы с магнитными частицами и обрабатываемым объемом 20 – 1000 мкл;
- планшеты глубоколоночные;
- гребенки для глубоколоночных планшетов.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

Выделение можно проводить как в ручном (на магнитном штативе или центрифуге), так и в автоматическом режиме. Протоколы выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

ВНИМАНИЕ! Смесь из Магнитного сорбента и Сорбирующего раствора хранится не более 24 ч без потери эффективности выделения.

4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на центрифуге в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку 500 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента, 10 мкл Концентрирующего раствора и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по 100 мкл исследуемого образца. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.

4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **10 минут** при температуре **65°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **13 000 об/мин**.
6. Полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
7. Добавить **700 мкл Лизирующего раствора**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **13 000 об/мин**.
8. Повторить шаг 6.
9. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 1**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **13 000 об/мин**.
10. Повторить шаг 6.
11. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 2**, осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **13 000 об/мин**.
ВНИМАНИЕ! После добавления **Промывочного раствора 2** содержимое пробирок не перемешивать.
12. Повторить шаг 6.
13. Убедиться, что **Промывочный раствор 2** удален полностью и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.
14. Внести **100 мкл Буфера** для элюции в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **5 минут** при **80 °C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
15. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить магнитный сорбент в течение **30 сек** при **13 000 об/мин**.
16. Отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в пробирках объемом 1,5/ 2,0 мл

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.

2. Добавить в каждую подготовленную пробирку **500 мкл Сорбирующего раствора**, **10 мкл Магнитного сорбента**, **10 мкл Концентрирующего раствора** и **10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО»** (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по **100 мкл исследуемого образца**. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **10 минут** при температуре **65°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив.
6. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
7. Добавить **700 мкл Лизирующего раствора**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратковременным центрифугированием.
8. Повторить шаг 6.
9. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 1**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить капли кратковременным центрифугированием.
10. Повторить шаг 6.
11. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 2**.
ВНИМАНИЕ! После добавления **Промывочного раствора 2** содержимое пробирок не перемешивать.
12. Повторить шаг 6.
13. **Убедиться, что Промывочный раствор 2 удален полностью** и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.
14. Внести **100 мкл Буфера для элюции** в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **5 минут** при **80 °C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
15. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить капли кратковременным центрифугированием и поместить пробирки в магнитный штатив.
16. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.
Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2-8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме на магнитном штативе в глубоколоночных планшетах

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую лунку планшета **500 мкл Сорбирующего раствора**, **10 мкл Магнитного сорбента**, **10 мкл Концентрирующего раствора** и **10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО»** (при его использовании).
3. В каждую лунку планшета внести по **100 мкл исследуемого образца**. При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний и инкубировать в термошейкере в течение **10 минут** при температуре **65°C**.
5. После инкубации осадить капли кратковременным центрифугированием/встряхиванием и поместить планшет на магнитный штатив для глубоколоночных планшетов на 96 образцов.
6. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром. Снять глубоколоночный планшет с магнитного штатива и поставить на рабочую поверхность.
7. Добавить **700 мкл Лизирующего раствора**, в каждую лунку.
8. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний, перемешать в термошейкере при комнатной температуре и осадить капли кратковременным центрифугированием/встряхиванием. Поместить планшет на магнитный штатив.
9. Повторить шаг 6.
10. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 1** в каждую лунку.
11. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний, перемешать в термошейкере при комнатной температуре и осадить капли кратковременным центрифугированием/встряхиванием. Поместить планшет на магнитный штатив.
12. Повторить шаг 6.
13. Добавить **700 мкл Промывочного раствора 2** в каждую лунку.
ВНИМАНИЕ! После добавления **Промывочного раствора 2** содержимое пробирок не перемешивать.
14. Повторить шаг 6.
15. **Убедиться, что Промывочный раствор 2 удален полностью** и инкубировать планшет при комнатной температуре в течение 60 секунд.
16. Внести **100 мкл Буфера для элюции** в каждую лунку.
17. Заклеить планшет пленкой / фольгой или подложкой для заклеиваний и инкубировать в термошейкере в течение **5 минут** при **80 °C**.

18. После инкубации осадить капли кратковременным центрифугированием/встряхиванием и поместить планшет на магнитный штатив.
19. Когда магнитные частицы сформируют осадок (приблизительно 30-40 сек.), отобрать элюат и перенести в чистый глубоколоночный планшет (при необходимости хранения перенести элюат в чистые пробирки).
Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.
Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.4. Протоколы выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций

4.4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах (96 и менее образцов)

1. Подготовить необходимое количество глубоколоночных планшетов (5 для реагентов и +1 для гребенок при необходимости, следуйте руководству по эксплуатации прибора).
2. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
3. Добавить в каждую лунку планшета №1 500 мкл Сорбирующего раствора, 10 мкл Магнитного сорбента, 10 мкл Концентрирующего раствора и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании) *.

**В случае одновременного проведения 48 и более выделений рекомендуется приготовить премикс из расчета 500 мкл Сорбирующего раствора + 10 мкл Магнитного сорбента + 10 мкл Концентрирующего раствора + 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании). При расчете учитывать запас – на 1 образец больше. Полученный премикс тщательно перемешать. При внесении в лунки планшета следить за гомогенностью магнитного сорбента в премиксе. Данная смесь хранится не более 24ч при температуре 2–8°C.*

4. В каждую лунку планшета №1 внести по 100 мкл исследуемого образца. При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
5. В планшет №2 в каждую лунку добавить по 700 мкл Лизирующего раствора, в планшет №3 в каждую лунку добавить по 700 мкл Промывочного раствора 1, в планшет №4 внести в каждую лунку по 700 мкл Промывочного раствора 2, в планшет №5 добавить по 100 мкл в каждую лунку Буфера для элюции.
6. Включить автоматическую станцию.
7. Загрузить планшеты с реагентами и гребенку в автоматическую станцию согласно программе выделения.
8. Запустить программу выделения.

Стандартное программирование автоматических станций для выделения приведено в таблице 3. Данную программу можно адаптировать под любой прибор. Готовые программы для различных приборов приведены в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail: perproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции).

Таблица 3 – Стандартное программирование автоматических станций для выделения.

№ шага	Этап	Объем, µl	Время ожидания	Время перемешивания	Скорость перемешивания	Время сбора магнитных частиц	Температура термоблока
1	Лизис	700	-	10 мин	Средняя	30 сек	Вкл, 65°C
2	Лизис 2	700	-	Минимум 30 Сек*	Быстрая	30 сек	Выкл
3	Промывка 1	700	-	Минимум 30 сек*	Быстрая	30 сек	Выкл
4	Промывка 2	700	-	0	-	30 сек	Выкл
5	Элюирование	100	1 мин	5 мин	Медленная	60 сек	Вкл, 80°C

**При невозможности установки данного значения рекомендуем установить время перемешивания 1 мин.*

Описание параметров:

- Номер шага – последовательность выполнения шага программы.
- Этап – наименование этапа, происходящего в данном шаге.
- Время ожидания – время ожидания перед началом перемешивания.
- Время перемешивания – время перемешивания реагентов в планшете.
- Скорость перемешивания – скорость движения гребенки для перемешивания жидкости в планшете.
- Время сбора магнитных частиц – время нахождения магнитных стержней внутри лунок для сбора магнитных частиц.
- Температура термоблока – температура термоблока, которая устанавливается в течение времени, заданного в параметре «Время перемешивания».

9. После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшет с элюатом для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

4.4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме с помощью автоматических станций в глубоколоночных планшетах (16 / 32 и менее образцов)

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Сорбирующим раствором и Магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую лунку реагенты. Таблица 4 является универсальной для заполнения столбцов реагентами.

Таблица 4 – Заполнение столбцов глубоколоночного планшета реагентами

Номер шага	Столбец планшета	Реагент	Объем, ul
1	1, 7	Сорбирующий раствор	500
		Магнитный сорбент	10
		Концентрирующий раствор	10
2	2, 8	Лизирующий	700
3	3, 9	Промывочный раствор 1	700
4	4, 10	Промывочный раствор 2	700
5	5, 11*	Буфер для элюции	100

*Номера столбцов могут меняться в зависимости от положения термоблоков в роботизированных станциях.

- В каждую лунку рядов, содержащих Сорбирующий раствор и Магнитный сорбент, внести по 100 мкл исследуемого образца и по 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании). При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
- Включить автоматическую станцию.
- Загрузить планшет/планшеты с реагентами в автоматическую станцию, загрузить гребенки.
- Запустить программу выделения.

Стандартное программирование автоматических станций для выделения приведено в таблице 3. Данную программу можно адаптировать под любой прибор. Готовые программы для различных приборов приведены в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции).

- После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшет для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате
 - Разделение реагентов на фракции. Компоненты Сорбирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Сорбирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.
 - Неполный лизис. Нарушение условий хранения и транспортировки. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием новых образцов и свежих реагентов.
 - Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме. Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо повторить выделение, строго соответствуя протоколу выделения нуклеиновых кислот.

- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме. Неправильное программирование прибора, неправильная загрузка либо использование сторонней программы выделения приведет к нарушению протокола выделения и низкому выходу или отсутствию нуклеиновых кислот в элюате. Необходимо программировать и загружать планшеты в прибор в соответствии с данной инструкцией и руководством изготовителя роботизированной станции.
- Необходима адаптация пробоподготовки при работе с транспортной средой для жидкостной цитологии. Обратитесь к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Адаптация пробоподготовки).
- Ингибирование ПЦР.
 - Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе. Необходимо повторить выделение.
 - Попадание в ПЦР-смесь магнитных частиц может привести к ингибированию ПЦР. При внесении нуклеиновых кислот необходимо отслеживать попадание магнитных частиц в реакционную смесь, при их наличии – удалить.
- Некачественный отбор биоматериала. Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции человеческого материала при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °C любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортируемый с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °C в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец и буфер для хранения хранить при температуре от 2 до 8°C. Концентрирующий раствор следует хранить при температуре от -20 до -16°C. Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдении всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диасенс»:

E-mail: pcrproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 6

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диагенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купчевича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/1/6*

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 6

Diasens

ТУ BY 191655593.010-2023

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	2
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	3
1.3. Противоконтаминационные меры	3
1.4. Безопасность реагентов	3
2. Комплектация	4
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	5
4. Методы исследования	5
5. Возможные проблемы и их решение	6
6. Условия хранения и транспортировки	7
6.1. Срок годности	7
6.2. Транспортирование	7
6.3. Хранение	7
6.4. Гарантии производителя	8
7. Условные обозначения	8

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
«Диагенс»	производственное унитарное предприятие «Диагенс»
РНК	рибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновые кислоты
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновая кислота
ГЭ	геномный эквивалент
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ОКЭ	отрицательный контроль экстракции
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
СИЗ	средство индивидуальной защиты
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта (в т. ч. соскоб шейки матки и цервикального канала в транспортной среде для жидкостной цитологии), респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей (в т. ч. цельной крови), ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот применяются совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волны 260 и 280 нм (260/280).

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Магнит» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противооконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.

- Репродуктивная токсичность отсутствует.

- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Магнит» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. Выделение необходимо проводить в автоматическом режиме с использованием открытых роботизированных станций.

Выделение суммарной РНК/ДНК реагентами «Diasens Магнит» основано на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевого буфера. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР, ПЦР-РВ и ОТ-ПЦР.

«Diasens Магнит» комплект 6, рассчитан на проведение 96 исследований, комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. «Diasens Магнит» комплект 6

Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Сорбирующий раствор с магнитным сорбентом	1 шт	96x0,5 мл
2. Промывочный раствор 1	1 шт	96x0,7 мл
3. Промывочный раствор 2	1 шт	96x0,7 мл
4. Буфер для элюции	1 шт	96x0,1 мл
5. Буфер для хранения*	1 шт	96x0,3 мл
6. Концентрирующий раствор	1 шт	1 мл
7. Лизирующий раствор	1 шт	70 мл
8. Гребенка для магнитных стержней	1 шт	
9. Планшеты на 96 лунок	5 шт	
10. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

В данной комплектации реагенты для выделения предварительно разлиты по лункам планшета и запаяны сверху металлической фольгой. Оптимально подходит для автоматического метода выделения из различного клинического материала, такого как: мазки, соскобы и отделяемых слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов (в том числе мазков из носоглотки и ротоглотки). Подходит для открытых роботизированных станций. Совместимость вариантов комплекта 6 с открытыми роботизированными станциями приведена в таблице 2.

Таблица 2. Совместимость вариантов комплекта 6 с роботизированными станциями

Производитель	Модель	Каталожный номер
Производственное унитарное предприятие «Диасенс» Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd	DS-Pure 96 GenePure Pro 96 (NPA-96, NPA 96E) GenePure Pro 96T (NPA-96T)	010/1/6a и 010/1/6a0 010/1/6b и 010/1/6b0
Biobase Biodustry (Shandong) Co. Ltd	BNP96, BK-HS96	010/1/6a и 010/1/6a0
BioTeke Corporation (wuxi) Co., Ltd.	Au-1001-32, Au1001S	010/1/6c и 010/1/6c0
BioTeke Corporation (wuxi) Co., Ltd.	Au-1001-96	010/1/6c и 010/1/6c0
Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd.	Auto-Pure 96	010/1/6d и 010/1/6d0
Yantai Addcare Bio-Tech Limited Company	Nexor 96	010/1/6d и 010/1/6d0
Thermo Fisher Scientific	KingFisher	010/1/6d и 010/1/6d0

При необходимости возможна адаптация протокола для роботизированных станций, производства Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd., Guangzhou BayBio Bio-tech Co., Ltd., Xiamen Zeesan Biotech Co, Ltd., Xi'an Tianlong Science and Technology Co., Ltd.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

- Ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников;
- роботизированная автоматическая станция с возможностью работы с магнитными частицами и обрабатываемым объемом 20 – 1000 мкл.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

Выделение нужно проводить в автоматическом режиме. Протокол выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

1. Тщательно перемешать содержимое планшета с Буфером для хранения с магнитным сорбентом. При наличии кристаллов в Сорбирующем растворе, прогреть содержимое планшета при 65°C до полного их растворения.
2. В каждую лунку планшета с Сорбирующим раствором внести по 100 мкл исследуемого образца и по 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании). При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
3. Включить автоматическую станцию.

4. Загрузить планшеты с реагентами и гребенку в автоматическую станцию согласно программе выделения, со всех планшетов снять защитные пленки.
5. Запустить программу выделения.

Стандартное программирование автоматических станций для выделения приведено в таблице 3. Данную программу можно адаптировать под любой прибор. Готовые программы для различных приборов приведены в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции).

Таблица 3 – Стандартное программирование автоматических станций для выделения

№ шага	Этап	Объем, μ л	Время ожидания	Время перемешивания	Скорость перемешивания	Время сбора магнитных частиц	Температура термоблока
1	Лизис	700	-	10 мин	Средняя	30 сек	Вкл, 65°C
2	Лизис 2	700	-	Минимум 30 сек*	Быстрая	30 сек	Выкл
2	Промывка 1	700	-	Минимум 30 сек*	Быстрая	30 сек	Выкл
3	Промывка 2	700	-	0	-	30 сек	Выкл
4	Элюирование	100	1 мин	5 мин	Медленная	60 сек	Вкл, 80°C

*При невозможности установки данного значения рекомендуем установить время перемешивания 1 мин.

Описание параметров:

- Номер шага – последовательность выполнения шага программы.
- Этап – наименование этапа, происходящего в данном шаге.
- Время ожидания – время ожидания перед началом перемешивания.
- Время перемешивания – время перемешивания реагентов в планшете.
- Скорость перемешивания – скорость движения гребенки для перемешивания жидкости в планшете.
- Время сбора магнитных частиц – время нахождения магнитных стержней внутри лунок для сбора магнитных частиц.
- Температура термоблока – температура термоблока, которая устанавливается в течение времени, заданного в параметре «Время перемешивания».

6. После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшет с элюатом для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате
 - Разделение реагентов на фракции. Компоненты Сорбирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Сорбирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.

- Неполный лизис. Нарушение условий хранения и транспортировки. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием новых образцов и свежих реагентов.
- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме. Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо повторить выделение, строго соответствуя протоколу выделения нуклеиновых кислот.
- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме. Неправильное программирование прибора, неправильная загрузка либо использование сторонней программы выделения приведет к нарушению протокола выделения и низкому выходу или отсутствию нуклеиновых кислот в элюате. Необходимо запрограммировать и загружать планшеты в прибор в соответствии с данной инструкцией и руководством изготовителя роботизированной станции.
- Необходима адаптация пробоподготовки при работе с транспортной средой для жидкостной цитологии. Обратитесь к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Адаптация пробоподготовки).
- Ингибирование ПЦР.
 - Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе. Необходимо повторить выделение.
 - Попадание в ПЦР-смесь магнитных частиц может привести к ингибированию ПЦР. При внесении нуклеиновых кислот необходимо отслеживать попадание магнитных частиц в реакционную смесь, при их наличии – удалить.
- Некачественный отбор биоматериала. Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции человеческого материала при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °С любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортируемый с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец и буфер для хранения хранить при температуре от 2 до 8 °С.

Концентрирующий раствор следует хранить при температуре от -20 до -16 °С. Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдении всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диагенс»:

E-mail: pcrproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 7

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диагенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/1/7*

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
комплект 7

Diasens

ТУ BY 191655593.010-2023

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	2
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	3
1.3. Противоконтаминационные меры	3
1.4. Безопасность реагентов	3
2. Комплектация	4
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	5
4. Методы исследования	5
5. Возможные проблемы и их решение	6
6. Условия хранения и транспортировки	7
6.1. Срок годности	7
6.2. Транспортирование	7
6.3. Хранение	7
6.4. Гарантии производителя	8
7. Условные обозначения	8

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит»
«Диагенс»	производственное унитарное предприятие «Диагенс»
РНК	рибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновые кислоты
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновая кислота
ГЭ	геномный эквивалент
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ОКЭ	отрицательный контроль экстракции
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
СИЗ	средство индивидуальной защиты
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Магнит» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта (в т. ч. соскоб шейки матки и цервикального канала в транспортной среде для жидкостной цитологии), респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей, ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот применяются совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Магнит» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.

- Репродуктивная токсичность отсутствует.

- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Магнит» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. Выделение необходимо проводить в автоматическом режиме с использованием открытых роботизированных станций.

Выделение суммарной РНК/ДНК реагентами «Diasens Магнит» основано на связывании нуклеиновых кислот с магнитным сорбентом в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевого буфера. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР, ПЦР-РВ и ОТ-ПЦР.

«Diasens Магнит» комплект 7, рассчитан на проведение 32 исследований, комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. «Diasens Магнит» комплект 7

Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Сорбирующий раствор с магнитным сорбентом	1 шт	32x0,25 мл
2. Промывочный раствор 1	1 шт	32x0,35 мл
3. Промывочный раствор 2	1 шт	32x0,3 мл
4. Буфер для элюции	1 шт	32x0,1 мл
5. Буфер для хранения*	1 шт	32x0,3 мл
6. Гребенка для магнитных стержней	4 шт	
7. Планшеты на 96 лунок	4 шт	
8. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

В данной комплектации реагенты для выделения предварительно разлиты по лункам планшета и запаяны сверху металлической фольгой. Оптимально подходит для автоматического метода выделения из различного клинического материала, такого как: мазки, соскобы и отделяемых слизистых оболочек урогенитального, респираторного и пищеварительного трактов (в том числе мазков из носоглотки и ротоглотки). Подходит для открытых роботизированных станций. Совместимость вариантов комплекта 7 с открытыми роботизированными станциями приведена в таблице 2.

Таблица 2. Совместимость вариантов комплекта 7 с роботизированными станциями

Производитель	Модель	Каталожный номер
Производственное унитарное предприятие «Диасенс»	DS-Pure 32	010/1/7a и 010/1/7a0
Hangzhou Bioer Technology Co. Ltd	GenePure Pro (NPA-32P, NPA-32P+)	010/1/7b и 010/1/7b0
Biobase Biodustry (Shandong) Co. Ltd	BNP32, BNP48,	010/1/7a и 010/1/7a0
Biobase Biodustry (Shandong) Co. Ltd	BK-HS32	010/1/7f и 010/1/7f0
BioTeke Corporation (wuxi) Co., Ltd.	Au-1001-32, Au1001S	010/1/7c и 010/1/7c0
Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd,	Auto-Pure 16A, Auto-Pure 32A	010/1/7d и 010/1/7d0
Yantai Addcare Bio-Tech Limited Company	Nexor 32	010/1/7e и 010/1/7e0
Jiangsu Biopurfectus Technologies Co., Ltd.	SMPE-960, SSNP-2000B, SSNP-3000A, SSNP-9600A	010/1/7g и 010/1/7g0

При необходимости возможна адаптация протокола для роботизированных станций, производства Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd., Guangzhou BayBio Bio-tech Co., Ltd., Xiamen Zeesan Biotech Co, Ltd., Xi'an Tianlong Science and Technology Co., Ltd.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

- Ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников;
- роботизированная автоматическая станция с возможностью работы с магнитными частицами и обрабатываемым объемом 20 – 1000 мкл.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

Выделение нужно проводить в автоматическом режиме. Протокол выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

1. Снять с планшета защитную пленку.
2. В каждую лунку столбца с Сорбирующим раствором внести по 100 мкл исследуемого образца и по 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании). При необходимости в лунку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
3. Включить автоматическую станцию.
4. Загрузить планшет/планшеты с реагентами в автоматическую станцию, загрузить гребенки.
5. Запустить программу выделения.

Стандартное программирование автоматических станций для выделения приведено в таблице 3. Данную программу можно адаптировать под любой прибор. Готовые программы для различных приборов приведены в адаптационных методиках. При возникновении необходимости помощи в программировании прибора Вы можете обратиться к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Программирование роботизированной станции).

Таблица 3 – Стандартное программирование автоматических станций для выделения.

№ шага	Этап	Объем, μ л	Время ожидания	Время перемешивания	Скорость перемешивания	Время сбора магнитных частиц	Температура термоблока
1	Лизис	350	-	10 мин	Средняя	30 сек	Вкл, 65°C
2	Промывка 1	350	-	Минимум 30 сек*	Быстрая	30 сек	Выкл
3	Промывка 2	300	-	Минимум 30 сек*	Быстрая	30 сек	Выкл
4	Элюирование	100	1 мин	5 мин	Медленная	60 сек	Вкл, 80°C

*При невозможности установки данного значения рекомендуем установить время перемешивания 1 мин.

Описание параметров:

- Номер шага – последовательность выполнения шага программы.
- Этап – наименование этапа, происходящего в данном шаге.
- Время ожидания – время ожидания перед началом перемешивания.
- Время перемешивания – время перемешивания реагентов в планшете.
- Скорость перемешивания – скорость движения гребенки для перемешивания жидкости в планшете.
- Время сбора магнитных частиц – время нахождения магнитных стержней внутри лунок для сбора магнитных частиц.
- Температура термоблока – температура термоблока, которая устанавливается в течение времени, заданного в параметре «Время перемешивания».

6. После звукового сигнала об окончании протокола изъять планшет с элюатом для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. При необходимости хранения, элюат перенести в чистые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате
 - Разделение реагентов на фракции. Компоненты Сорбирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Сорбирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.

- Неполный лизис. Нарушение условий хранения и транспортировки. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием новых образцов и свежих реагентов.
- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме. Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо повторить выделение, строго соответствуя протоколу выделения нуклеиновых кислот.
- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в автоматическом режиме. Неправильное программирование прибора, неправильная загрузка либо использование сторонней программы выделения приведет к нарушению протокола выделения и низкому выходу или отсутствию нуклеиновых кислот в элюате. Необходимо запрограммировать и загружать планшеты в прибор в соответствии с данной инструкцией и руководством изготовителя роботизированной станции.
- Необходима адаптация пробоподготовки при работе с транспортной средой для жидкостной цитологии. Обратитесь к производителю (e-mail: pcrproduction@diasens.by, тема: Адаптация пробоподготовки).
- Ингибирование ПЦР.
 - Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе. Необходимо повторить выделение.
 - Попадание в ПЦР-смесь магнитных частиц может привести к ингибированию ПЦР. При внесении нуклеиновых кислот необходимо отслеживать попадание магнитных частиц в реакционную смесь, при их наличии – удалить.
- Некачественный отбор биоматериала. Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции человеческого материала при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °С любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец хранить при температуре от 2 до 8 °С. Не допускается

замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдения всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диагенс»:

E-mail: pcrproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	2
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	3
1.3. Противоконтаминационные меры	3
1.4. Безопасность реагентов	3
2. Комплектация	4
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	4
4. Методы исследования	5
4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот	5
5. Возможные проблемы и их решение	5
6. Условия хранения и транспортировки	6
6.1. Срок годности	6
6.2. Транспортирование	6
6.3. Хранение	6
6.4. Гарантии производителя	6
7. Условные обозначения	7

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Экспресс»
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
«Diasens»	производственное унитарное предприятие «Diasens»
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Экспресс» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта, респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей, ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

УТВЕРЖДАЮ

Директор
Производственного унитарного
предприятия «Diasens»

Д.В. Ягодинский



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК
«Diasens Экспресс»
комплект 1, 2, 3, 4, 5, 6

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Diasens»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с,
район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7,
помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/2/**

* – дополнительный символ, для уточнения комплектации

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот могут применяться, как в ручном режиме выделения НК, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Экспресс» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.

- Мутагенное действие отсутствует.

- Репродуктивная токсичность отсутствует.

- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Экспресс» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. «Diasens Экспресс», в зависимости от комплекта, может содержать одновременно и транспортную среду и экспресс-реагент для очистки НК.

Метод очистки НК набором «Diasens Экспресс» основан на термической обработке клинического образца в присутствии экспресс реагента, что приводит к разрушению клеточной или вирусной оболочки и высвобождению НК. Нерастворимые компоненты смеси удаляют центрифугированием, а супернатант содержит НК, пригодную для проведения ПЦР анализа.

Комплектация «Diasens Экспресс» представлена в таблице 1

Таблица 1. «Diasens Экспресс»

Комплект	Компонент	Количество	Объем, не менее
Комплект 1: реагент и транспортная среда расфасованы в отдельные пробирки	1. Транспортная среда	100 шт	100x0,5мл
	2. Раствор - экспресс	100 шт	100x0,5мл
	3. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл
Комплект 2: реагент расфасован в отдельные пробирки	1. Раствор - экспресс	100 шт	100x0,5мл
	2. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл
Комплект 3: реагент и транспортная среда расфасованы в отдельные пробирки	1. Транспортная среда	96 шт	96x0,5мл
	2. Раствор - экспресс	96 шт	96x0,5мл
	3. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл
Комплект 4: реагент расфасован в отдельные пробирки	1. Раствор - экспресс	96 шт	96x0,5мл
	2. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл
Комплект 5: реагент и транспортная среда расфасованы по 500 мл	1. Транспортная среда	1 шт	500 мл
	2. Раствор - экспресс	1 шт	500 мл
	3. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл
Комплект 6: реагент расфасован по 500 мл	1. Раствор - экспресс	1 шт	500 мл
	2. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;

- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников.
- твердотельный термостат или термошейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2,0 мл со скоростью вращения не менее 13 000 об/мин;

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2)

Выделение можно проводить как в ручном, так и в автоматическом режиме. Протоколы выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот

1. Тщательно перемешать содержимое пробирок с исследуемым образцом и Раствором-экспресс. При наличии кристаллов в Растворе-экспресс, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку, содержащую 500 мкл Раствора-экспресс, по 100 мкл исследуемого образца и по 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании).
3. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл ОКО или чистой транспортной среды.
4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение 5 минут при температуре 95°C (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок и центрифугировать в течение 60 сек при 13 000 об/мин.

Надосадочная жидкость содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР. Для хранения рекомендуется перенести надосадочную жидкость в новые пробирки.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот

Компоненты Раствора-экспресс могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.

- Ингибирование ПЦР

Метод не позволяет работать с образцами, содержащими большое количество ингибиторов ПЦР, таких как кровь или избыточное количество слизи.

- Некачественный отбор биоматериала.

Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции внутреннего контрольного образца при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °C любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °C в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец хранить при температуре от 2 до 8°C. Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдения всех условий транспортирования, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диагенс»:

E-mail: pcrproduction@diasens.by

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	2
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	3
1.3. Противоконтаминационные меры	3
1.4. Безопасность реагентов	3
2. Комплектация	4
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	4
4. Методы исследования	5
4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот	5
5. Возможные проблемы и их решение	6
6. Условия хранения и транспортировки	6
6.1. Срок годности	6
6.2. Транспортирование	6
6.3. Хранение	7
6.4. Гарантии производителя	7
7. Условные обозначения	7

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Сорбент»
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
«Diasens»	производственное унитарное предприятие «Diasens»
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Сорбент» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта, респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей, ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот могут применяться, как в ручном режиме выделения НК, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК
«Diasens Сорбент»
комплект 1

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Diasens»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/3/**

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Сорбент» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.
- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Сорбент» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. Выделение суммарной РНК/ДНК реагентами «Diasens Сорбент» основано на связывании нуклеиновых кислот с силикатными сорбентами в присутствии хаотропных солей и их последующей элюцией в низкосолевого буфера. Данный метод позволяет получать РНК/ДНК, пригодную для постановки ПЦР, ПЦР-РВ и ОТ-ПЦР.

«Diasens Сорбент» комплект 1, рассчитан на проведение 100 исследований, комплектация представлена в таблице 1.

Таблица 1. «Diasens Сорбент» комплект 1

Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Лизирующий раствор	1 шт	30 мл
2. Сорбент	1 шт	3 мл
3. Промывочный раствор 1	1 шт	30 мл
4. Промывочный раствор 2	1 шт	30 мл
5. Буфер для элюции	1 шт	15 мл
6. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников.
- твердотельный термостат или термошейкер для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
- микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2,0 мл со скоростью вращения не менее 13 000 об/мин;
- аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
- одноразовые наконечники без фильтра*;

*не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2)

Выделение можно проводить как в ручном, так и в автоматическом режиме. Протоколы выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Лизирующим раствором и Сорбентом. При наличии кристаллов в Лизирующем растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку **300 мкл Лизирующего раствора**, **30 мкл Сорбента** и **10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО»** (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по **100 мкл исследуемого образца**. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **10 минут** при температуре **65°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить сорбент в течение **30 сек при 13 000 об/мин.**
6. Полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
7. Добавить **300 мкл Промывочного раствора 1**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить сорбент в течение **30 сек при 13 000 об/мин.**
8. Повторить шаг 6.
9. Добавить **300 мкл Промывочного раствора 2**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить сорбент в течение **30 сек при 13 000 об/мин.**
10. Повторить шаг 6.
11. Убедиться, что Промывочный раствор 2 удален полностью и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.

12. Внести **100 мкл Буфера для элюции** в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **5 минут** при **65°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
13. После инкубации перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить сорбент в течение **30 сек при 13 000 об/мин.**
14. Отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате

Компоненты Лизирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Лизирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.

- Ингибирование ПЦР

Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе, а также попадание в ПЦР-смесь частиц сорбента может привести к ингибированию ПЦР. При внесении нуклеиновых кислот необходимо отслеживать попадание магнитных частиц в реакционную смесь, при их наличии – удалить.

- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме.

Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо строго соответствовать протоколу выделения нуклеиновых кислот.

- Некачественный отбор биоматериала.

Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции человеческого материала при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °C любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортируемый с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец хранить при температуре от 2 до 8°С. Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдения всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диасенс»:

E-mail: perproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	2
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	3
1.3. Противоконтаминационные меры	3
1.4. Безопасность реагентов	3
2. Комплектация	3
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	4
4. Методы исследования	5
4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот	5
5. Возможные проблемы и их решение	6
6. Условия хранения и транспортировки	6
6.1. Срок годности	6
6.2. Транспортирование	6
6.3. Хранение	7
6.4. Гарантии производителя	7
7. Условные обозначения	7

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Преп»
«Diasens»	производственное унитарное предприятие «Diasens»
ВКР	высокий канцерогенный риск
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновая кислота
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ОКЭ	отрицательный контроль экстракции
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
СИЗ	средство индивидуальной защиты
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Преп» предназначены для выделения ДНК/РНК из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта, респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей, ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот могут применяться, как в ручном режиме выделения НК, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот,

УТВЕРЖДАЮ

Директор
Производственного унитарного
предприятия «Diasens»

Д.В. Ягодинский

«13» июля 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК
«Diasens Преп»
комплект 1, 2

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Diasens»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/4/**

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Преп» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.
- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Преп» является универсальным набором, для выделения ДНК и РНК из клинического материала. Выделение суммарной РНК/ДНК реагентами «Diasens Преп» происходит методом осаждения нуклеиновых кислот спиртовым раствором с последующей промывкой осадка для удаления нежелательных примесей и растворением в буфере с низкой ионной силой.

«Diasens Преп», рассчитан на проведение 100 исследований, комплектация представлена в таблице 1

Таблица 1. «Diasens Преп»

Комплект 1		
Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Лизирующий раствор	1 шт	30 мл
2. Сорбирующий раствор	1 шт	40 мл
3. Промывочный раствор 1	1 шт	30 мл
4. Промывочный раствор 2	1 шт	30 мл
5. Буфер для элюции	1 шт	15 мл
6. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

Комплект 2		
Компонент	Количество	Объем, не менее
1. Лизирующий раствор	1 шт	30 мл
2. Сорбирующий раствор	1 шт	40 мл
3. Промывочный раствор 1	1 шт	30 мл
4. Буфер для элюции	1 шт	15 мл
5. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
 - центрифуга-вортекс с функцией центрифугирования и встряхивания;
 - холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
 - микропипетки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
 - штативы пластиковые для микропипеток объемом 1,5 / 2,0 мл;
 - дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
 - одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
 - средства индивидуальной защиты;
 - емкость для сброса наконечников.
 - твердотельный термостат или термошейкер для микропипеток объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
 - микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2,0 мл со скоростью вращения не менее 13 000 об/мин;
 - аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
 - одноразовые наконечники без фильтра*;
- *не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2)

Выделение можно проводить как в ручном, так и в автоматическом режиме. Протоколы выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот

1. Тщательно перемешать содержимое флаконов с Лизирующим и Сорбирующим раствором. При наличии кристаллов в растворе, прогреть содержимое флакона при 65°C до полного их растворения.
2. Добавить в каждую подготовленную пробирку **300 мкл Лизирующего раствора и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО»** (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по **100 мкл исследуемого образца**. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе и инкубировать в термощейкере в течение **10 минут** при температуре **65°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
5. После инкубации перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
6. Добавить **400 мкл Сорбирующего раствора**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить в течение **10 минут** при **13 000 об/мин.**
7. Полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость, не задевая осадок, используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
8. Добавить **300 мкл Промывочного раствора 1**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить в течение **30 сек** при **13 000 об/мин.**
9. Повторить шаг 7.
10. Добавить **300 мкл Промывочного раствора 2**, перемешать содержимое пробирок на вортексе и осадить в течение **30 сек** при **13 000 об/мин.**
11. Повторить шаг 7.
12. Убедиться, что Промывочный раствор 2 удален полностью и инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение 60 секунд.

13. Внести **100 мкл Буфера для элюции** в каждую пробирку, перемешать на вортексе и инкубировать в термощейкере в течение **5 минут** при **65°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании).
14. После инкубации перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
15. Отобрать элюат и перенести в чистые пробирки.

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР и ОТ-ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате

Компоненты Лизирующего и Сорбирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Лизирующем и Сорбирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 65°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.

- Ингибирование ПЦР

Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе может привести к ингибированию ПЦР. При внесении нуклеиновых кислот необходимо отслеживать попадание магнитных частиц в реакционную смесь, при их наличии – удалить.

- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме.

Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо строго соответствовать протоколу выделения нуклеиновых кислот.

- Некачественный отбор биоматериала.

Отсутствие положительного сигнала по каналу детекции человеческого материала при повторном исследовании свидетельствует о некачественном отборе биоматериала. Требуется повторный отбор биоматериала.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °C любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец хранить при температуре от 2 до 8 °С. Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдения всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диасенс»:

E-mail: pcrproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК
«Diasens Эксперт»
комплект 1, 3

TU BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!
Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диасенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/5/**

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

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

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ
Реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Эксперт»
комплект 1, 3

Diasens
ТУ BY 191655593.010-2023

СОДЕРЖАНИЕ

1.	Назначение	2
1.1.	Функциональные характеристики	3
1.2.	Контроль качества реагентов	3
1.3.	Противоконтаминационные меры	3
1.4.	Безопасность реагентов	4
2.	Комплектация	4
3.	Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	4
4.	Методы исследования	5
4.1.	Процедура получения биологического материала	5
4.2.	Подготовка компонентов набора для исследования	6
4.3.	Протокол выделения нуклеиновых кислот	7
5.	Возможные проблемы и их решение	8
6.	Условия хранения и транспортировки	9
6.1.	Срок годности	9
6.2.	Транспортирование	10
6.3.	Хранение	10
6.4.	Гарантии производителя	10
7.	Условные обозначения	11

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Эксперт»
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
«Диасенс»	производственное унитарное предприятие «Диасенс»
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения ДНК «Diasens Эксперт» предназначены для выделения геномной ДНК человека из фиксированных в формалине и заключенных в парафин тканей (FFPE-блоков) для последующего исследования методами ПЦР в том числе с детекцией результатов в режиме

реального времени. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выделения нуклеиновых кислот могут применяться, как в ручном режиме выделения нуклеиновых кислот, так и совместно с приборами для автоматической экстракции и очистки нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280). Концентрация выделенной ДНК из 30 мг фиксированной в формалине и заключенной в парафин ткани не менее 5 нг/мкл.

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Эксперт» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки»,

утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.
- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Эксперт» предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клинико-диагностических лабораториях для выделения геномной ДНК человека из фиксированных в формалине и заключенных в парафин тканей (FFPE-блоков) методом, основанном на связывании нуклеиновых кислот с силикатной мембраной в спин-колонке. Данный метод позволяет получать ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ПЦР-РВ.

Комплекты реагентов «Diasens Эксперт» (варианты представлены в таблице 1):

Комплект 1 рассчитан на проведение 100 исследований;

Комплект 3 рассчитан на проведение 50 исследований.

Таблица 1. «Diasens Эксперт» комплект 1 и «Diasens Эксперт» комплект 3

Компонент	Комплект 1		Комплект 3	
	Количество	Объем, не менее	Количество	Объем, не менее
1. Лизирующий раствор	1 шт	2 мл	1 шт	1 мл
2. Сорбирующий раствор	1 шт	20 мл	1 шт	10 мл
3. Промывочный раствор 1	2 шт	2x50 мл	2 шт	2x25 мл
4. Буфер для элюции	1 шт	10 мл	1 шт	5 мл
5. Колонки	100 шт		50 шт	
6. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

Внимание! Для работы с набором дополнительно требуются чистый этиловый спирт (95%) и кислоты.

Совместимость вариантов наборов с открытыми роботизированными станциями приведена в таблице 2.

Таблица 2. Совместимость вариантов набора с роботизированными станциями

Кат. №	Совместимость с прибором
010/5/1a 010/5/3a	Не предназначен
010/5/1b 010/5/3b	QIAcube

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;

- вортекс;
 - холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
 - микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
 - штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
 - набор дозаторов полуавтоматических переменного объема;
 - одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
 - средства индивидуальной защиты;
 - емкость для сброса наконечников.
 - твердотельный термостат для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
 - микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2,0 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
 - аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
 - одноразовые наконечники без фильтра*;
- *не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

Выделение можно проводить как в ручном, так и в автоматическом режиме. Протоколы выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

4.1 Процедура получения биологического материала

Материалом для проведения процедуры выделения ДНК служит срез фиксированной в формалине и заключенной в парафин ткани (срез с FFPE-блока). Срезы необходимо готовить непосредственно перед процедурой выделения. В каждом срезе с FFPE-блока площадь фрагмента фиксированной ткани должна составлять до 250 мм², толщина среза – до 10 мкм. Для выделения ДНК рекомендуется использовать 2 среза с FFPE-блока.

Критерии пригодности гистологических Препаратов для выявления ДНК для последующего молекулярно-генетического анализа опухолевых клеток

- По результатам морфологического исследования опухолевые комплексы должны занимать не менее 60 % площади ткани в срезе с FFPE-блока.

- По результатам морфологического исследования зоны некроза и кровоизлияния в совокупности должны занимать не более 15 % площади ткани в срезе с FFPE-блока.

В случае, если образец не соответствует хотя бы одному из перечисленных критериев, рекомендуется использовать другой образец.

Анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки (температура, продолжительность, многократное замораживание-оттаивание).

Требования к подготовке образцов ткани в FFPE-блоках

- При фиксации ткани формалином использовать 10 % нейтральный формалин (pH от 7.0 до 7.6).
- Проводить фиксацию ткани формалином не дольше 24 часов.
- Для декальцинации использовать реагенты только на основе EDTA.

Внимание! Образцы после декальцинации с применением муравьиной или азотной кислоты для молекулярного исследования не пригодны.

Общий срок хранения фиксированных формалином и залитых парафином образцов ткани (FFPE-блоки) не более 3 лет при температуре от +15 до +25 °C.

4.2. Подготовка компонентов набора для исследования

Выпадение кристаллов не влияет на качество набора. При кристаллизации одного из растворов, необходимо прогреть флакон с раствором при 50 °C и тщательно перемешать до полного растворения кристаллов и гомогенизации раствора.

Перед началом работы следует приготовить рабочие концентрации из Промывочного раствора 1.

Лизирующий буфер следует хранить при температуре не выше -18°C.

Приготовление рабочей концентрации Промывочного раствора 1-А для проведения 2 и более исследований согласно формуле: 500 мкл Промывочного раствора 1 + 250 мкл спирта (95%). Приготовление рабочей концентрации Промывочного раствора 1-В для проведения 2 и более исследований согласно формуле 300 мкл Промывочного раствора 1 + 1, 2 мл спирта (95%). Пример расчета необходимого количества реагентов приведен в таблице 2.

Таблица 2. Пример расчета количества реагентов для приготовления рабочих концентраций

Количество исследований	Промывочного раствора 1-А		Промывочного раствора 1-В	
	Объем Промывочного раствора 1	Объем спирта (95%)	Объем Промывочного раствора 1	Объем спирта (95%)
1	470 мкл	235 мкл	280 мкл	1120 мкл
2	1000 мкл	500 мкл	600 мкл	2,4 мл
4	2 мл	1000 мкл	1200 мкл	4,8 мл
8	4 мл	2 мл	2,4 мл	9,6 мл
12	6 мл	3 мл	3,6 мл	14,4 мл
50	25 мл	12,5 мл	15 мл	60 мл
100	50 мл	25 мл	30 мл	120 мл

Срок годности рабочих концентраций Промывочного раствора 1 не более 6 мес. с даты приготовления.

Реагенты, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

Все компоненты набора перед началом работы необходимо тщательно перемешать.

4.3. Протокол выделения нуклеиновых кислот

При работе на приборе для автоматической экстракции и очистки нуклеиновых кислот обратитесь к адаптивным методикам.

Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме:

1. Поместить **2 среза** с FFPE-блоков в подготовленную пробирку. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
2. Добавить **1200 мкл ксилола**. Инкубировать при комнатной температуре до тех пор, пока парафин полностью не растворится (приблизительно 2 мин). Закрыть крышку и тщательно перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10 сек.
3. Центрифугировать в течение **2 мин при 11 000 об/мин.**
4. Полностью аккуратно удалить надосадочную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
5. Добавить **1200 мкл этилового спирта (95%)**. Тщательно перемешать содержимое пробирок на вортексе. *Этиловый спирт экстрагирует остаточный ксилол из образца.*
6. Центрифугировать в течение **2 мин при 11 000 об/мин.**
7. Повторить шаг 4.
8. Открыть крышку и инкубировать при температуре **60°C в течение 10 мин** или до тех пор, пока весь остаточный этиловый спирт не испарится. *Остаточный этиловый спирт может снизить выход ДНК.*
9. Ресуспендировать осадок в **180 мкл Сорбирующего раствора**, затем добавить **20 мкл Лизирующего буфера** (см. п. 4.2) и 10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО» (при его использовании). Перемешать на вортексе избегая образования пены.
10. Полученную смесь инкубировать **при 50°C в течение 3 часов**. *Если после 3 часов инкубации видны нелизированные частицы ткани, добавить еще 10 мкл Лизирующего буфера и продолжить инкубацию еще на 3 часа или оставить на ночь.*
11. Перемешать на вортексе, а затем еще инкубировать **1 час при 90 °C**. *Эта стадия необходима для удаления химической модификации, вызванной формалином, из ДНК, которая высвобождается в растворе на предыдущем этапе лизиса. Более длительное время инкубации или более высокие температуры инкубации могут приводить к большей фрагментации ДНК.*

12. Перемешать на вортексе. Поставить прогреваться Буфер для элюции при температуре **50°C**.
13. Перенести весь получившийся объем смеси в спин-колонку с собирательной пробиркой, закрыть крышку. Центрифугировать в течение **1 мин при 6 000 об/мин.** Полностью аккуратно удалить отфильтрованную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром. *При необходимости, центрифугировать несколько раз, до тех пор, пока весь раствор не пройдет через колонку.*
14. Добавить в спин-колонку **700 мкл** рабочей концентрации **Промывочного раствора 1-А**. Центрифугировать в течение **1 мин при 6 000 об/мин.**, отфильтрованную жидкость удалить.
15. Добавить в спин-колонку **700 мкл** рабочей концентрации **Промывочного раствора 1-В**. Центрифугировать в течение **1 мин при 6 000 об/мин.**, отфильтрованную жидкость удалить.
16. Повторить шаг 15.
17. Вернуть спин-колонку в собирательную пробирку и просушить колонку центрифугированием. Центрифугировать в течение **1 мин при 12 000 об/мин.** *При наличии остатка Промывочного раствора 1-В необходимо просушить спин-колонку в собирательных пробирках с открытыми крышками инкубированием при 60°C 10 мин.*
18. Поместить спин-колонку в чистую пробирку. Добавить **60-100 мкл** заранее прогретого **Буфера для элюции в центр мембраны**, чтобы обеспечить полное элюирование связанной ДНК. Инкубировать **при комнатной температуре (15-25°C) в течение 10-15 мин.** Центрифугировать в течение **2 мин при 12 000 об/мин.**

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие ДНК в элюате
 - Неполный лизис. Нарушение условий хранения и транспортировки (в особенности Лизирующего буфера). Необходимо повторить процедуру выделения с использованием новых образцов.
 - Использование этилового спирта в концентрации ниже 95%. Необходимо повторить процедуру выделения с новыми образцами, используя 95% этиловый спирт. Нельзя использовать денатурированный спирт, который содержит другие вещества, такие как метанол и метилэтилкетон.
 - Неверная подготовка Промывочного раствора 1-А и Промывочного раствора 1-В. Необходимо убедиться, что концентрированные промывочные растворы были разбавлены в соответствии с инструкцией и повторить процедуру выделения с использованием новых образцов.

- Ингибирование ПЦР. Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе, а также недостаточная просушка мембраны спин-колонки перед элюированием ДНК может привести к ингибированию ПЦР. Необходимо повторить выделение.
- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот. Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо повторить выделение, строго соответствуя протоколу выделения нуклеиновых кислот.
- Плохой выход ДНК в последующих ферментативных реакциях
 - Фрагментация ДНК вследствие модификации формальдегида. Инкубация при 90°C удаляет большую часть модификации формальдегида, однако ДНК, выделенная из FFPE-блоков, может не работать в ферментативных реакциях также хорошо, как ДНК, выделенная из свежей или замороженной (нефиксированной?) ткани. Рекомендуется брать для ПЦР <500 нуклеотидов.
 - Низкая чувствительность. При необходимости можно снизить количество Буфера для элюции до 30 мкл.
 - Разделение реагентов на фракции. Солевые и этанольные компоненты рабочих концентраций Промывочного раствора 1 могут быть разделены после длительного периода их хранения. Необходимо всегда перед использованием тщательно перемешивать рабочие концентрации Промывочного раствора 1.
- Забивание мембраны. Неполный лизис может вызвать забивание мембраны. Увеличьте время лизиса, чтобы полностью лизировать образец. Если после 3 часов инкубации видны нелизированные частицы ткани, необходимо добавить еще 10 мкл Лизирующего раствора и продолжить инкубацию еще на 3 часа или оставить на ночь.
- Использование среза с FFPE-блока в количестве не достаточном для проведения процедуры выделения ДНК. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием достаточного количества нового образца.
- Использование непригодного образца. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием нового образца, соответствующего критериям пригодности.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности приготовленных рабочих концентраций Промывочного раствора 1 – 6 мес. с даты приготовления.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25°C любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов.

Лизирующий буфер следует транспортировать при температуре не выше 0 °C.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °C в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец хранить при температуре от 2 до 8°C. Лизирующий буфер следует хранить при температуре от -20 до -18°C.

Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Приготовленные рабочие концентрации Промывочного раствора 1 хранить не более 6 мес. с даты приготовления.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантия производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдения всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диасенс»:

E-mail: perproduction@diasens.by

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060. Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		

УТВЕРЖДАЮ

Директор
Производственного унитарного
предприятия «Диагенс»

Д.В. Ягодинский

«13» июля 2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для выделения РНК и ДНК
«Diasens Эксперт»
комплект 2, 4

TU BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!
Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диагенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купчевича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер: 010/5/**

* - дополнительный символ, для уточнения комплектации

СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	2
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Контроль качества реагентов	3
1.3. Противоконтаминационные меры	3
1.4. Безопасность реагентов	4
2. Комплектация	4
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	4
4. Методы исследования	5
4.1 Предварительная подготовка биологического материала	5
4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот	6
5. Возможные проблемы и их решение	7
6. Условия хранения и транспортировки	7
6.1. Срок годности	7
6.2. Транспортирование	8
6.3. Хранение	8
6.4. Гарантии производителя	8
7. Условные обозначения	9

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Реагенты	реагенты для выделения РНК и ДНК «Diasens Эксперт»
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
«Диагенс»	производственное унитарное предприятие «Диагенс»
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты для выделения ДНК «Diasens Эксперт» предназначены для выделения нуклеиновых кислот из образцов цельной крови (кат. № 010/5/2a, 010/5/4a, 010/5/2c, 010/5/4c) и из всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта, респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей (кат. № 010/5/2b, 010/5/4b, 010/5/2d, 010/5/4d) для последующего исследования методами ПЦР и ОТ-ПЦР в том числе с детекцией

результатов в режиме реального времени, ферментативной подготовки геномных библиотек и секвенирования. Наборы могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

Реагенты для выделения нуклеиновых кислот могут применяться, как в ручном режиме выделения нуклеиновых кислот, так и совместно с приборами для автоматической экстракции типа QIAcube (QIAGEN N.V., Германия) позволяющих проводить центрифугирование и нагрев образцов в процессе очистки нуклеиновых кислот, при условии, что на приборе можно установить программу последовательности действий, изложенных в инструкции по применению набора.

1.1. Функциональные характеристики

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом биоматериале, на эффективность экстракции НК при использовании «Diasens Эксперт» отсутствует.

1.2. Контроль качества реагентов

Для оценки этапов выделения и амплификации может использоваться экзогенный и эндогенный внутренние контрольные образцы «ВКО». Экзогенный внутренний контрольный образец «ВКО» необходимо добавлять к каждому образцу согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. Внутренний контрольный образец «ВКО» проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования внутреннего контрольного образца «ВКО» должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

1.3. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки»,

утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.4 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.
- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens Эксперт» предназначен для профессионального применения в медицинских учреждениях и клинико-диагностических лабораториях для выделения нуклеиновых кислот методом, основанном на связывании нуклеиновых кислот с силикатной мембраной в спин-колонке. Данный метод позволяет получать ДНК, пригодную для постановки ПЦР и ПЦР-РВ.

Комплекты реагентов «Diasens Эксперт» (варианты представлены в таблице 1):

Комплект 2 рассчитан на проведение 100 исследований;

Комплект 4 рассчитан на проведение 50 исследований.

Таблица 1. «Diasens Эксперт» комплект 2 и «Diasens Эксперт» комплект 4

Компонент	Комплект 2		Комплект 4	
	Количество	Объем, не менее	Количество	Объем, не менее
1. Лизирующий раствор	1 шт	20 мл	1 шт	10 мл
2. Сорбирующий раствор	1 шт	20 мл	1 шт	10 мл
3. Промывочный раствор 1	2 шт	2x65 мл	2 шт	2x32,5 мл
5. Буфер для элюции	1 шт	15 мл	1 шт	10 мл
8. Колонки	100 шт		50 шт	
7. РНК носитель	1 шт	2 мл	1 шт	1 мл
6. Внутренний контрольный образец «ВКО»*	1 шт	1 мл	1 шт	1 мл

* компонент по согласованию с покупателем и в зависимости от варианта фасовки может не входить в комплект.

Совместимость вариантов наборов с открытыми роботизированными станциями приведена в таблице 2.

Таблица 2. Совместимость вариантов набора с роботизированными станциями

Кат. №	Совместимость с прибором
010/5/2a и 010/5/2b 010/5/4a и 010/5/4b	Не предназначен
010/5/2c и 010/5/2d 010/5/4c и 010/5/4d	QIAcube (QIAGEN N.V., Германия)

Рекомендуется применять для работы с наборами для проведения ПЦР любых производителей.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- вортекс;

- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
 - микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
 - штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
 - набор дозаторов полуавтоматических переменного объема;
 - одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
 - средства индивидуальной защиты;
 - емкость для сброса наконечников.
 - твердотельный термостат для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл с диапазоном поддержания температур 20-100°C;
 - микроцентрифуга для пробирок объемом 1,5 и/или 2,0 мл со скоростью вращения не менее 12 000 об/мин;
 - аспиратор медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости*;
 - одноразовые наконечники без фильтра*;
- *не требуется при использовании полуавтоматического дозатора для удаления надосадочной жидкости.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции нуклеиновых кислот.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

Выделение можно проводить как в ручном, так и в автоматическом режиме. Протоколы выделения можно модифицировать под имеющееся в наличии оборудование.

4.1 Предварительная подготовка биологического материала

Цельную кровь необходимо перемешать в пробирке, перевернув ее несколько раз.

Мазки и соскобы можно использовать без пробоподготовки.

Для получения клеточных намывов из слюны и мочи необходимо центрифугировать пробирку с биоматериалом объемом 1,5-2 мл при макс. об/мин в течение 2 минут с последующим удалением супернатанта.

При наличии в образце сгустков крови или образец плохого качества с примесями мы не гарантируем результат.

Срок хранения образцов цельной крови:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от +2 до +8°C – в течение 24 часов.

Хранение биоматериала:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от +2 до +8 °C – в течение 3 суток;
- при температуре от -20 °C – в течение месяца

4.2. Протокол выделения нуклеиновых кислот

При работе на приборе для автоматической экстракции и очистки нуклеиновых кислот обратитесь к адаптивным методикам.

Протокол выделения нуклеиновых кислот в ручном режиме:

1. Тщательно перемешать содержимое флакона с Лизирующим и Сорбирующим раствором. При наличии кристаллов в растворах, прогреть содержимое флакона при 60°C до полного их растворения.
2. В подготовленные пробирки внести по **200 мкл Лизирующего раствора**, **20 мкл РНК носителя** и **10 мкл внутреннего контрольного образца «ВКО»** (при его использовании).
3. В каждую пробирку внести по **100 мкл исследуемого образца**. При необходимости в пробирку, промаркированную ОКЭ (отрицательный контроль экстракции), внести 100 мкл Буфера для элюции.
4. Плотно закрыть крышки, интенсивно перемешать на вортексе и инкубировать в термошейкере в течение **10 минут** при температуре **60°C** (возможна инкубация в термостате при периодическом перемешивании). Поставить прогреваться Буфер для элюции при температуре 60°C.
5. После инкубации добавить к смеси **200 мкл Сорбирующего раствора**, интенсивно перемешать содержимое пробирок на вортексе, осадить капли кратковременным центрифугированием и аккуратно, не касаясь наконечником мембраны, перенести весь объем смеси в спин-колонку с собирательной пробиркой.
6. Центрифугировать в течение **1 мин при 10 000 об/мин**. Полностью аккуратно удалить отфильтрованную жидкость используя аспиратор и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца либо автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром.
7. Добавить в спин-колонку **650 мкл Промывочного раствора 1** аккуратно, не касаясь наконечником мембраны. Центрифугировать в течение **1 мин при 10 000 об/мин**, отфильтрованную жидкость удалить.
8. Добавить в спин-колонку **650 мкл Промывочного раствора 1** аккуратно, не касаясь наконечником мембраны. Центрифугировать в течение **30 сек при 10 000 об/мин**, отфильтрованную жидкость удалить.
9. Вернуть спин-колонку в собирательную пробирку и просушить колонку центрифугированием. Центрифугировать в течение **1 мин при 12 000 об/мин**. При наличии остатка Промывочного раствора 2 необходимо просушить спин-колонки в собирательных пробирках с открытыми крышками инкубированием при 60°C 10 мин.

10. Поместить спин-колонку в чистую пробирку. Добавить **50-100 мкл Буфера для элюции в центр мембраны** аккуратно, не касаясь наконечником мембраны. *Буфер предпочтительно заранее прогреть чтобы обеспечить полное элюирование связанных нуклеиновых кислот.* Инкубировать при комнатной температуре (15-25°C) в течение **2 мин.** Центрифугировать в течение **30 сек при 12 000 об/мин.**

Элюат содержит очищенные нуклеиновые кислоты, готовые для постановки ПЦР.

Допускается хранение элюата РНК в течение 1 суток /ДНК в течение 3 суток при температуре 2–8°C или в течение 12 месяцев при температуре не выше минус 16°C.

5. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ И ИХ РЕШЕНИЕ

- Низкий выход или отсутствие нуклеиновых кислот в элюате. Неполный лизис. Нарушение условий хранения и транспортировки (в особенности РНК носителя). Необходимо повторить процедуру выделения с использованием новых образцов.
- Ингибирование ПЦР. Недостаточный отбор надосадочной жидкости на каждом этапе, а также недостаточная просушка мембраны спин-колонки перед элюированием нуклеиновых кислот может привести к ингибированию ПЦР. Необходимо повторить выделение.
- Нарушение протокола выделения нуклеиновых кислот. Не выдержаны этапы инкубации, не соблюден порядок использования реагентов. Необходимо повторить выделение, строго соответствуя протоколу выделения нуклеиновых кислот.
- Плохой выход ДНК в последующих ферментативных реакциях
 - Низкая чувствительность. При необходимости можно снизить количество Буфера для элюции до 30 мкл.
 - Разделение реагентов на фракции. Солевые и этанольные компоненты реагентов могут быть разделены после длительного периода их хранения. Необходимо всегда перед использованием тщательно перемешивать реагенты. Компоненты Сорбирующего раствора могут выпадать в кристаллический осадок. При наличии осадка в Сорбирующем растворе перед процедурой выделения необходимо прогреть флакон при 60°C периодически перемешивая до полного растворения осадка.
- Забивание мембраны. Неполный лизис может вызвать забивание мембраны. Увеличьте время лизиса до 20 минут, чтобы полностью лизировать образец.
- Использование образца плохого качества. Необходимо повторить процедуру выделения с использованием нового образца, соответствующего критериям пригодности.

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

6.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

6.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25°C любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов.

Лизирующий буфер и РНК носитель следует транспортировать при температуре не выше 0°C.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

6.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °C в течение всего срока годности набора. Внутренний контрольный образец хранить при температуре от 2 до 8°C. РНК носитель и лизирующий раствор следует хранить при температуре от -20 до -18°C.

Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

6.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдения всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диасенс»:

E-mail: perproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: <http://diasens.by/>.

7. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		



СОДЕРЖАНИЕ

1. Назначение	2
1.1. Функциональные характеристики	3
1.2. Противоконтаминационные меры	3
1.3. Безопасность реагентов	3
2. Комплектация	3
3. Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором	4
4. Методы исследования	4
4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот	5
5. Условия хранения и транспортировки	5
5.1. Срок годности	5
5.2. Транспортирование	5
5.3. Хранение	5
5.4. Гарантии производителя	5
6. Условные обозначения	6

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Реагенты для выявления нуклеиновых кислот:

Реагенты для хранения образцов – транспортная среда
«Diasens TC»

комплект 1, 2, 3, 4

Реагенты для хранения образцов – транспортная среда
с муколитиком «Diasens TCM»

комплект 1, 2, 3, 4, 5

ТУ BY 191655593.010-2023

ВНИМАНИЕ!

Изучите инструкцию перед
началом работы



Производственное унитарное предприятие «Диагенс»

Юридический адрес: 223060, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, район деревни Большое Стиклево, д. 40, корп. 1, пом. 22

Производственная площадка: Республика Беларусь, 220141, г. Минск, ул. Купревича, 7, помещение № 162, 360

office@diasens.by
+375 17 320-65-10

Каталожный номер для TC: 010/6/**
Каталожный номер для TCM: 010/7/**

* – дополнительный символ, для уточнения комплектации

Реагенты для хранения образцов	транспортная среда «Diasens TC» или транспортная среда с муколитиком «Diasens TCM»
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
«Диагенс»	производственное унитарное предприятие «Диагенс»
ВКО	внутренний контрольный образец
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПЦР-РВ	полимеразная цепная реакция с детекцией результата в режиме реального времени
ОТ-ПЦР	полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией
ОСОЧ	объекты среды обитания человека

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Реагенты предназначены для отбора и хранения всех видов клинического материала полученных из: урогенитального тракта, респираторного тракта, пищеварительного тракта, биологических жидкостей, ОСОЧ для последующего исследования методами ПЦР, ОТ-ПЦР, в том числе с детекцией результатов в режиме реального времени. Реагенты могут применяться для проведения как медицинских, так и научных исследований.

1.1. Функциональные характеристики

Обеспечивает сохранность клинического материала с момента забора:

1.2. Противоконтаминационные меры

Лаборатория, в которой будет использоваться тест-система, должна быть оснащена необходимым оборудованием, а весь рабочий процесс, необходимо выполнять поэтапно в разных зонах, не допуская возвращения образцов в предыдущие зоны. Оператор должен использовать СИЗы, своевременно менять одноразовые наконечники дозаторов и соблюдать базовые принципы работы в чистой зоне.

Рекомендуется не реже одного раза в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами.

Оценка загрязнения проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2).

1.3 Безопасность реагентов

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.
- Вещества, обладающие потенциальной инфекционной природой, отсутствуют.

2. КОМПЛЕКТАЦИЯ

«Diasens TC» является реагентами для хранения образцов – транспортной средой, для отбора и хранения клинического материала. Оптимально подходит для хранения образцов с низким содержанием слизи.

Таблица 1. «Diasens TC»

Комплект	Компонент	Объем, не менее
Комплект 1: Весь реагент расфасован в один флакон	1. Транспортная среда	1 шт. – 500 мл
Комплект 2: Весь реагент расфасован в отдельные пробирки.	1. Транспортная среда	100 шт. - 0,5 мл
Комплект 3: Весь Реагент расфасован в отдельные пробирки. В комплекте к транспортной среде идёт соответствующее количество назофарингеальных зондов для отбора клинического материала.	1. Транспортная среда	100 шт. 0,5 мл
	2. Зонд для отбора образца 1	100 шт.
Комплект 4: Реагент расфасован в отдельные пробирки. В комплекте к транспортной среде идёт соответствующее количество назофарингеальных зондов для отбора клинического материала.	1. Транспортная среда	1 шт. 0,5 мл
	2. Зонд для отбора образца 1	1 шт.

«Diasens TCM» является реагентами для хранения образцов – транспортной средой с муколитиком, для отбора и хранения клинического материала. «Diasens TCM» подходит для хранения образцов с высоким содержанием слизи, за счёт наличия муколитика, который обеспечивает её разжижение.

Таблица 2. «Diasens TCM»

Комплект	Компонент	Объем, не менее
Комплект 1: Весь реагент расфасован в один флакон.	1. Транспортная среда	1 шт. – 500 мл
Комплект 2: Весь реагент расфасован в отдельные пробирки.	1. Транспортная среда	100 шт. - 0,5 мл
Комплект 3: Весь реагент расфасован в отдельные пробирки. В комплекте к транспортной среде идёт соответствующее количество назофарингеальных зондов для отбора клинического материала.	1. Транспортная среда	100 шт. - 0,5 мл
	2. Зонд для отбора образца 1	1 шт.
Комплект 4: Весь реагент расфасован в отдельные пробирки. В комплекте к транспортной среде идёт соответствующее количество урогенитальных зондов для отбора клинического материала.	1. Транспортная среда	1 шт. - 0,5 мл
	2. Зонд для отбора образца 2	1 шт.
Комплект 5: Весь реагент расфасован в отдельные пробирки. В комплекте к транспортной среде идёт соответствующее количество цитощеток для отбора клинического материала.	1. Транспортная среда	1 шт. - 0,5 мл
	2. Зонд для отбора образца 3	1 шт.

3. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ РАБОТЫ С НАБОРОМ

- ламинарный бокс II или III класса биологической безопасности;
- центрифуга-вортке с функцией центрифугирования и встряхивания;
- холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8°C;
- микропробирки объемом 1,5 / 2,0 мл с замком Safe-Lock
- штативы пластиковые для микропробирок объемом 1,5 / 2,0 мл;
- дозаторы полуавтоматические переменного объема (100 – 1000 мкл, 10 – 100 мкл);
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов переменного объема;
- средства индивидуальной защиты;
- емкость для сброса наконечников.

4. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала. Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории. (Санитарные нормы и правила «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их

учета, хранения, передачи и транспортировки», утвержденные Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 06.01.2017 №2)

4.1. Протокол выделения нуклеиновых кислот

1. Расфасовать ТС / ТСМ по 0,5 мл в полипропиленовые пробирки (для не расфасованного формата)
2. Взятие клинического материала производится в соответствии с существующими методическими рекомендациями, инструкциями и ТНПА.
3. Поместить рабочую часть зонда с взятым клиническим материалом в пробирку с транспортной средой и переломив её в зоне насечки оставить в пробирке. В случае отсутствия насечки, рабочую часть зонда, прижав к внутренней стенке пробирки, вращать в течение 5-10 секунд, после чего удалить зонд и закрыть плотно пробирку.

5. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

5.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев с даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

5.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 25 °С любым видом транспорта в условиях, обеспечивающих их сохранность, в соответствии с правилами перевозки грузов, действующими на данном виде транспорта. Не допускается замораживание реагентов. Набор, транспортируемый с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

5.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора. Не допускается замораживание реагентов. Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

5.4. Гарантии производителя

Производитель гарантирует соответствие набора требованиям, изложенным в технической и эксплуатационной документации, при условии соблюдения всех условий транспортировки, хранения и применения в течение указанного срока годности.

Рекламации по качеству реагентов «Тест-системы для выявления возбудителей заболеваний, передающихся половым путем» направлять в производственное унитарное предприятие «Диасенс»:

E-mail: perproduction@diasens.by;

Телефон: +375 17 320-65-10;

Почтовый адрес: 223060, Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н, Новодворский с/с, р-н д. Большое Стиклево, S-Union, ячейка 43.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: <http://diasens.by/>.

6. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

	Номер по каталогу		Изготовитель
	Код партии		Дата изготовления
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Использовать до
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		