IVD

Набор реагентов для экстракции ДНК из биологического материала
«МагноПрайм ВПЧ» по ТУ 21.20.23-060-09286667-2019

«МагноПрайм ВПЧ»

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2,
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

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

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ 3
1. НАЗНАЧЕНИЕ 4
1.1. Область применения 4
1.2. Показания к применению 4
1.3. Противопоказания к применению 4
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА 4
2.1. Состав и комплектность 4
2.2. Принцип метода 5
2.3. Функциональные характеристики 6
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА 7
3.1. Отрицательный и положительный контроли экстракции ДНК 7
3.2. Контроль ингибирования 7
3.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации 7
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА 8
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ 8
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ 12
6.1. Взятие исследуемого материала 12
6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала 12
6.3. При использовании набора совместно с автоматическими станциями для экстракции НК 13
6.4. При использовании набора в случае ручной методики экстракции НК 13
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ 14
7.1. Мазки со слизистой оболочки влагалища 15
7.2. Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала 15
7.3. Соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры 15
7.4. Соскобы эпителия со слизистой оболочки прямой кишки 16
7.5. Предварительная подготовка исследуемого материала взятого в транспортную среду для жидкостной цитологии 16
8. ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА 18
8.1. Автоматическая методика экстракции 18
8.2. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива 20
8.3. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования 22
8.4. Хранение очищенной ДНК 24
9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА 24
9.1. Срок годности 24
9.2. Транспортирование 24
9.3. Хранение 25
10. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 25
11. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 26

Версия 17.08.2020
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВКО	–	внутренний контрольный образец
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	–	дезоксирибонуклеаза
НК	–	нуклеиновые кислоты
ОК	–	отрицательный контроль
ОКО	–	отрицательный контрольный образец
ПК	–	положительный контроль
ПКО	–	положительный контрольный образец

Версия 17.08.2020
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Предназначен для экстракции ДНК исследуемых возбудителей и ДНК человека из биологического материала (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса, в том числе взятых в транспортную среду для жидкостной цитологии), соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), прямой кишки) для последующего исследования методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Набор может использоваться для ручной методики выделения НК, или совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что запрограммирована последовательность действий, изложенная в инструкции по применению набора.

1.1. Область применения

Набор используется в клинической лабораторной диагностике для экстракции ДНК исследуемых возбудителей и ДНК человека из биологического материала для дальнейшего исследования методом полимеразной цепной реакции для выявления возбудителей инфекционных заболеваний.

1.2. Показания к применению

Набор используется в комплексном анализе, направленном на выявление возбудителей инфекционных заболеваний в биологическом материале, полученном в ходе скрининговых исследований, подтверждения диагноза, мониторинге лечения, с последующим исследованием экстрагированных образцов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

1.3. Противопоказания к применению

Нарушение целостности упаковки, истекший срок годности, несоблюдение требований инструкции.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Состав и комплектность

Состав набора и комплектность поставки указаны в таблице 1 и 2 соответственно.

Набор рассчитан на выделение ДНК из 96 образцов, включая контроли.

Версия 17.08.2020
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 1

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
М-лизин[1]  Опасно	106,0	1 флакон	Раствор для удаления слизи. Прозрачная жидкость.
Ц-лизин	11,0	1 флакон	Раствор для разрушения клеточных мембран. Прозрачная жидкость.
Ф-буфер	106,0	1 флакон	Раствор для отмывки клеток. Прозрачная жидкость.
Буфер L[1]  Опасно	24,0	1 флакон	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость[2].
Буфер Е	77,0	1 флакон	Раствор для отмывки и элюции. Прозрачная жидкость.
МГС	1,10	1 пробирка	Магнетизированная силика. Суспензия.
ОКО	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ВКО-FL	1,10	1 пробирка	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.

Таблица 2

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов	–	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: http://www.nextbio.ru/reagents/	1
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: http://www.nextbio.ru/passport/	1

2.2. Принцип метода

Исследуемые образцы, взятые в транспортную среду для жидкостной цитологии, обрабатываются муколитиком для растворения слизи цервикального канала. Далее производится отмывка клеток от транспортной среды с помощью буферного раствора и деструкция клеточных мембран путем их лизиса протеазой, в результате чего повышается эффективность дальнейшей экстракции ДНК.

Исследуемый образец[3] в объеме 100 мкл обрабатывается лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики – магнитного сорбента. В результате

[1] Реагенты содержат опасные вещества. Информацию по опасным веществам и мерам предосторожности при работе с реагентами см. в разделе инструкции «Меры предосторожности и предупреждения».
[2] При хранении Буфера L возможно образование осадка в виде кристаллов.
[3] Для некоторых видов биологического материала требуется помещение материала в транспортную среду и/или этап предварительной обработки. См. раздел инструкции «Исследуемый материал».

Версия 17.08.2020
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

происходит деструкция клеточных мембран, вирусных оболочек и других биополимерных комплексов и высвобождение ДНК. Растворенная ДНК связывается с частицами сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются при осаждении сорбента на магнитном штативе/стержне или с использованием центрифуги и с последующей отмывкой сорбента. При добавлении буфера для элюции ДНК к магнитному сорбенту происходит переход ДНК с поверхности силики в раствор, который затем отделяется от частиц сорбента магнитной силой либо центрифугированием.

2.3. 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 ДНК при использовании набора «МагноПрайм ВПЧ» отсутствует. Это было показано при добавлении к образцам биоматериала интерферирующих веществ, представленных в таблице 18, в максимально возможной концентрации для используемых видов биоматериала.

Таблица 18

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса) в транспортной среде для жидкостной цитологии	муцин	0,23 мг/100 мкл
	гемоглобин	0,20 ммоль/100 мкл
отделяемое слизистой оболочки урогенитального тракта в транспортной среде для мазков	мочевина	0,033 ммоль/100 мкл
	лубриканты	5 мкг/100 мкл
	семенная жидкость	5 мкг/100 мкл
	мирамистин	0,001 % действующего вещества в 100 мкл
	итраконазол	6,5 мкг/100 мкл
	метронидазол	5 мкг/100 мкл
	дидрогестерон	5 мкг/100 мкл
	прогестерон	5 мкг/100 мкл
соскоб эпителия со слизистой оболочки прямой кишки	гликохолат натрия	11,1 нг/100 мкл
	натрий таурохолат гидрат	3,8 нг/100 мкл
	хлорофилл	0,26 мкг/100 мкл

Также при использовании набора «МагноПрайм ВПЧ» не выявлено влияние ДНК человека на эффективность экстракции ДНК при добавлении к образцам отделяемого слизистой оболочки влагалища искусственно-синтезированной ДНК человека в

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

максимально возможной концентрации ($3{,}0x10^6$ копий/100 мкл) для данного вида биоматериала.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль этапа экстракции ДНК осуществляется одновременно с оценкой достоверности результатов этапа амплификации.

3.1. Отрицательный и положительный контроли экстракции ДНК

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы:

- отрицательный контроль (ОК) для подтверждения отсутствия ложноположительных результатов и контроля контаминации. В качестве ОК используют реагент, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации;
- положительный контроль (ПК), если он предусмотрен для проведения ПЦР-исследования. В качестве ПК используют реагент, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации.

Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

3.2. Контроль ингибирования

Для оценки влияния ингибиторов на результаты амплификации в ПЦР-исследовании может использоваться экзогенный[4] и эндогенный[5] ВКО. Экзогенный ВКО необходимо добавить в каждый исследуемый и контрольный образец согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. ВКО проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования ВКО должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

3.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Рекомендуется раз в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами. Оценка наличия/отсутствия контаминации проводится

[4] ВКО-FL из набора «МагноПрайм ВПЧ» или ВКО, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации.
[5] В качестве эндогенного ВКО используются мишени, предусмотренные набором реагентов для проведения амплификации.

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

путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. Взятие и исследование смывов следует проводить согласно процедуре, описанной в МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

4.1. Набор «МагноПрайм ВПЧ» применяется только для диагностики *in vitro*.

4.2. Набор предназначен для экстракции ДНК исследуемых возбудителей и ДНК человека только из биологического материала, указанного в разделе «Назначение». Применение набора для выделения ДНК из другого вида биологического материала не гарантирует эффективности действия методики, лежащей в основе работы набора, и может привести к получению недостоверного результата.

4.3. Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала, указанные в разделе «Исследуемый материал». Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции ДНК.

4.4. Применение набора возможно только персоналом, обученным методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

5.2. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

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

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

получению недостоверных результатов анализа.

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08.

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08.

- Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку[6], биологический материал[7], включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром[8]. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Набор предназначен для однократного применения для проведения экстракции ДНК из указанного количества образцов (см. раздел «Состав и комплектность»).

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08).

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

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

- Не смешивать реагенты из разных серий набора.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки

[6] Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.
[7] Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.
[8] Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции используются одноразовые наконечники без фильтра.

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

по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

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

- При контакте немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь, рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

- Входящие в состав набора М-лизин и Буфер L содержат опасные вещества, указанные в таблице 3. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данным реагентом, описаны в таблице 4.

Таблица 3

Реагент	Опасные вещества	Заявления об опасности	Меры предосторожности
М-лизин	2-Меркаптоэтанол	H301, H310+H330, H314, H317, H318, H400, H410	P261, P264, P280, P301+P310, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P405, P501
Буфер L	изопропанол, гуанидин хлорид, гуанидин тиоцианат, тритон X-100, 1-тиоглицерол	H225, H302, H311, H312, H315, H319, H332, H336, H411, H412, EUH032	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P332+P313, P337+P313, P362+P364, P370+P378, P403+P235, P501

Таблица 4

Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с М-лизином и Буфером L

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. H301: Токсично при проглатывании. H302: Вредно при проглатывании. H310+H330: Смертельно при попадании на кожу или при вдыхании. H311: Токсично при контакте с кожей. H312: Вредно при контакте с кожей. H314: Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждение глаз. H315: Вызывает раздражение кожи.	H332: Вредно при вдыхании. H336: Может вызывать вялость или сонливость. H400: Чрезвычайно токсично для водных организмов H410: Чрезвычайно токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями.
H317: При контакте с кожей вызывает аллергическую реакцию. H318: Вызывает серьезные повреждения глаз. H319: Вызывает серьезное раздражение глаз.	H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.

Версия 17.08.2020
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Меры предосторожности	
P210: Хранить вдали от источников тепла, горячих поверхностей, искр, открытого пламени и других источников воспламенения. Не курить. P233: Хранить в плотно закрытой таре. P241: Использовать взрывобезопасное электрическое оборудование. P242: Используйте только не искрящие инструменты. P261: Избегать вдыхания паров. P264: Вымойте руки после работы тщательно. P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта. P271: Используйте только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Пользоваться защитными перчатками и средствами защиты глаз. P301+P310: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Немедленно обратиться к врачу. P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой или принять душ.	P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если Вы ими пользуетесь и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. P312: Обратиться к врачу при плохом самочувствии. P332+P313: При раздражении кожи: обратиться к врачу. P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией. P362+P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием. P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения. P403+P235: Хранить в прохладном, хорошо вентилируемом месте. P405: Хранить в недоступном для посторонних месте. P501: Утилизировать содержимое в соответствии с национальными правилами СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

- Листы безопасности реагентов, входящих в состав набора, доступны по запросу.

- Входящие в состав набора Ц-лизин, Ф-буфер, Буфер Е, МГС, ОКО и ВКО-FL содержат натрия азид в концентрации не более 0,1 % и соответственно не классифицируются как опасные и не требуют соблюдения специальных мер предосторожности, кроме указанных в данном разделе.

- Ц-лизин содержит протеиназу К в концентрации, не превышающей 0,04 %, и соответственно не классифицируется как опасный и не требует соблюдения специальных мер предосторожности, кроме указанных в данном разделе.

- Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека. При аварийных ситуациях возможно причинение вреда при попадании на кожу и слизистую оболочку глаз, при вдыхании и при проглатывании.

5.3. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.

- Мутагенное действие отсутствует.

- Репродуктивная токсичность отсутствует.

Версия 17.08.2020
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие исследуемого материала

6.1.1. Транспортная среда с муколитиком для взятия, транспортирования и хранения биологического материала (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала, соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры), содержащая консервант.

6.1.2. Транспортная среда для взятия, транспортирования и хранения биологического материала (соскоб эпителия прямой кишки), содержащая изотонический водно-солевой раствор с консервантом.

6.1.3. Транспортная среда для взятия, транспортирования и хранения биологического материала для жидкостной цитологии (соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала), содержащая консервант, спирты, натрий-фосфатный буферный раствор, солевые растворы и др.

6.1.4. Зонд универсальный стерильный для взятия биологического материала (соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала, соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры, прямой кишки)), однократного применения, изготовленный из полипропилена, состоящий из головки (рабочая часть), и ручки. Рабочая часть зонда может отламываться по имеющейся насечке.

6.1.5. Щетка эндоцервикальная / цитощетка для взятия биологического материала для жидкостной цитологии (соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала) однократного применения, стерильная.

6.1.6. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 5,0 мл, для взятия биологического материала для жидкостной цитологии.

6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала

6.2.1. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 5 мл.

6.2.2. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл.

6.2.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 200 мкл.

6.2.5. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл и 5 мл.

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

6.2.6. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10 000 g.

6.2.7. Вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.

6.2.8. Центрифуга-вортекс.

6.2.9. Автоматический дозатор переменного объема на 1000 мкл.

6.3. При использовании набора совместно с автоматическими станциями для экстракции НК

ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые полипропиленовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКаз.

6.3.1. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.3.2. Вортекс.

6.3.3. Автоматическая станция для экстракции НК, (например, Microlab STARlet, РЗН 2018/6981), зарегистрированная в РФ и удовлетворяющая следующим требованиям:

- возможность реализации последовательности этапов экстракции, описанной в разделе «Экстракция ДНК из исследуемого материала» (п. 8.1.2);
- наличие системы дозирования жидкостей в диапазоне не менее от 100 до 500 мкл;
- наличие магнитного штатива или магнитных стержней для сбора магнетизированной силики;
- наличие термостата или термошейкера с возможностью нагрева не менее чем до 60 °С;
- наличие системы перемешивания жидкостей шейкированием или пипетированием.

6.3.4. Комплект расходных материалов для автоматической станции для экстракции НК согласно инструкции Производителя.

6.3.5. Холодильник от 2 до 8 °С.

6.3.6. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.3.7. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

6.4. При использовании набора в случае ручной методики экстракции НК

6.4.1. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл, свободные от ДНКаз.

6.4.2. Одноразовые наконечники, свободные от ДНКаз, для дозаторов

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

переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл.

6.4.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 200 мкл.

6.4.4. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.

6.4.5. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл - при проведении экстракции с использованием магнитного штатива (см. раздел «Экстракция ДНК из исследуемого материала», п. 8.2).

6.4.6. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10 000 g - при проведении экстракции с использованием центрифугирования (см. раздел «Экстракция ДНК из исследуемого материала», п. 8.3).

6.4.7. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.4.8. Вортекс.

6.4.9. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева не менее чем до 60 °С.

6.4.10. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.

6.4.11. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.4.12. Холодильник от 2 до 8 °С.

6.4.13. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.4.14. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Материалом для исследования служит соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса, в том числе взятых в транспортную среду для жидкостной цитологии), соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры, прямой кишки).

Наиболее информативными являются исследования материала, полученного непосредственно из потенциального очага инфекционного процесса. Поскольку инфекционный процесс может захватывать несколько очагов, для получения наиболее исчерпывающей информации пробы материала необходимо брать из всех очагов, где имеются признаки воспаления или находятся клетки-мишени для инфекционных агентов. Решение о выборе места взятия исследуемого материала

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

принимает лечащий врач в зависимости от диагностической задачи.

Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с нижеперечисленными требованиями, несоблюдение которых может привести к получению некорректных результатов исследования.

7.1. Мазки со слизистой оболочки влагалища

Взятие материала провести из заднебокового свода влагалища с помощью стерильного одноразового зонда-тампона или универсального зонда в пробирку с транспортной средой с муколитиком в соответствии инструкцией по применению зонда. Необходимо максимально полно собрать отделяемое. Рабочую поверхность зонда поместить в транспортную среду, обломав пластиковую основу. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде слизи и крови.

ВНИМАНИЕ! Во избежание контаминации, нельзя обрезать зонд ножницами!

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.2. Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала

Перед получением материала слизь и отделяемое влагалища с поверхности шейки матки удалить стерильным марлевым тампоном.

Взятие материала провести из цервикального канала:

- с помощью стерильной одноразовой цервикальной цитощетки или универсального зонда, в пробирку с транспортной средой с муколитиком, в соответствии инструкцией по применению цитощетки / зонда;

- с помощью стерильной одноразовой цервикальной цитощетки, в пробирку с транспортной средой для жидкостной цитологии, содержащей спирты, натрий-фосфатный буферный раствор, солевые растворы и др., в соответствии инструкцией по применению цитощетки.

Допустимо минимальное присутствие примесей в виде цервикальной слизи и крови.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде.

7.3. Соскобы эпителия со слизистой оболочки уретры

Взятие эпителиального соскоба из уретры проводить с помощью стерильного

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

одноразового универсального зонда в пробирку с транспортной средой с муколитиком в соответствии инструкцией по применению зонда. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде слизи и крови.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.4. Соскобы эпителия со слизистой оболочки прямой кишки

Перед взятием мазка провести тщательный туалет с мылом и водой области вокруг анального отверстия.

Взятие материала провести с поверхности боковых стенок ампулы прямой кишки с помощью одноразового стерильного зонда-тампона из полипропилена/полистирола с вискозой или хлопком, в пробирку с транспортной средой, содержащей изотонический водно-солевой раствор с консервантом, в соответствии с инструкцией по применению зонда. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде слизи, крови, гноя и каловых масс.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, включающую изотонический водно-солевой раствор с консервантом, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

7.5. Предварительная подготовка исследуемого материала, взятого в транспортную среду для жидкостной цитологии

Отобрать аликвоту клеток для исследования методом ПЦР одноразовыми наконечниками с фильтром в одноразовую пробирку. Рекомендуется сначала отобрать аликвоту клеток для ПЦР-исследования, после отобрать аликвоту клеток – для проведения жидкостной цитологии.

7.5.1. Подготовка эпителиальных клеток (выбрать один из вариантов)

Вариант 1

1. Флаконы с образцами (в транспортной среде для жидкостной цитологии) интенсивно встряхнуть для дезинтеграции клеток и оставить на 12 часов для осаждения клеток.
2. Аккуратно из раствора отобрать **0,5 – 1,0 мл осевших клеток** со дна флакона и перенести в чистую пробирку объемом 1,5 мл, на пробирке указать название образца.
3. Центрифугировать пробирки с клетками при **10 000 g** не менее **2 мин**.

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

4. Аккуратно удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником без фильтра на 200 мкл, используя автоматический дозатор или вакуумный отсасыватель, не захватывая осадок. В пробирке должно остаться 100 - 200 мкл осадка.

Вариант 2

1. Флаконы с образцами (в транспортной среде для жидкостной цитологии) интенсивно встряхнуть для дезинтеграции клеток.

2. Аккуратно из раствора отобрать **2 – 5 мл клеточной суспензии** (в зависимости от ее плотности) и перенести в чистую пробирку объемом 5 мл, на пробирке указать название образца.

3. Пробирки с образцами центрифугировать при **600 g** (3000 об/мин) **не менее 10 минут** или оставить пробирки в штативе при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) на 12 часов для осаждения клеток.

4. Аккуратно удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником без фильтра на 200 мкл, используя автоматический дозатор или вакуумный отсасыватель, не захватывая осадок.

5. В пробирке на 5 мл должно остаться 900 - 1000 мкл осадка. Перенести в чистую пробирку на 1,5 мл весь объем осадка.

6. Центрифугировать пробирки с клетками при **10 000 g** не менее **2 мин**.

7. Аккуратно удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником без фильтра на 200 мкл, используя автоматический дозатор или вакуумный отсасыватель, не захватывая осадок. В пробирке на 1,5 мл должно остаться 100 - 200 мкл осадка.

7.5.2. Отмывка эпителиальных клеток

7.5.2.1. В каждую пробирку с осадком клеток внести по **1 мл М-лизина**. Тщательно перемешать пробирки на вортексе и поставить осаждаться на **30 мин** в штативе.

ВНИМАНИЕ! Если по истечении 30 минут в пробирке видны следы не растворившейся слизистой пробки, необходимо дополнительно перемешать пробирку на вортексе и оставить в штативе еще на 15 мин.

7.5.2.2. Пробирки с образцами центрифугировать при **10 000 g** в течение **2 мин**.

7.5.2.3. Аккуратно удалить надосадочную жидкость по стенке пробирки, не захватывая осадок, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы. Оставить 100 - 200 мкл осадка.

7.5.2.4. В каждую пробирку внести по **1 мл Ф-буфера**, тщательно перемешать на вортексе.

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

7.5.2.5. Пробирки с образцами центрифугировать при **10 000 g** в течение **2 мин**.

7.5.2.6. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 7.5.2.3. Оставить 100 - 200 мкл осадка. Далее, аккуратно удалить остаток надосадочной жидкости, не захватывая осадок, из каждой пробирки отдельным наконечником с фильтром на 200 мкл, используя автоматический дозатор.

7.5.2.7. В каждую пробирку с осадком клеток внести по **100 мкл Ц-лизина**, тщательно ресуспендировать осадок пипетированием, используя отдельный наконечник с фильтром на 200 мкл для каждой пробы. Пробирки перемешать на вортексе.

7.5.2.8. Инкубировать пробы **не менее 2 часов (допускается оставить на ночь)** при температуре **60 ºС**.

8. ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Экстракция ДНК должна проводиться при нормальных показателях микроклимата клинико-диагностической лаборатории[9]:

- температура окружающего воздуха от 20 до 28 °С;
- относительная влажность от 40 до 75%.

8.1. Автоматическая методика экстракции

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную в п. 8.1.2.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включен ВКО, то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора, не используя ВКО-FL.

8.1.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.1.1.1. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования).

8.1.1.2. Допускается внесение всего содержимого пробирок с **ВКО-FL** и **МГС** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

8.1.2. Процедура экстракции ДНК

8.1.2.1. Внесение образцов

[9] Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

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

При проведении экстракции из образцов, взятых в транспортную среду для жидкостной цитологии

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматических станций, имеющих картриджи с ячейками (используется в некоторых моделях автоматической станции) внести **Буфер L** в ячейки картриджа, после чего добавить предварительно подготовленную **смесь МГС и ВКО-FL**. Далее перенести **образцы**, подготовленные согласно п. 7.5., **в полном объеме**

а) Внести в каждую ячейку картриджа по **200 мкл Буфера L**, **10 мкл ВКО-FL**, **10 мкл МГС** или **по 220 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL**, **МГС** и **Буфера L**. Затем **в полном объеме** перенести исследуемые **образцы**, подготовленные согласно п. 7.5. Перемешать содержимое пробирок.

б) Внести в каждую ячейку картриджа для контрольных образцов раздельно по **10 мкл ВКО-FL**, **10 мкл МГС** и **200 мкл Буфера L** или **по 220 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL**, **МГС** и **Буфера L**.

в) Внести в пробирки контрольные образцы[10] (ОКО и ПКО, если они предусмотрены для проведения исследования) в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Перемешать содержимое пробирок.

При проведении экстракции из остальных образцов

а) Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных образцов раздельно по **10 мкл ВКО-FL**, **10 мкл МГС** и **200 мкл Буфера L** или **по 220 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL**, **МГС** и **Буфера L**.

б) Внести в пробирки исследуемые и контрольные[10] (ОКО и ПКО, если они предусмотрены для проведения исследования) образцы в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.2. Прогреть пробирки при температуре **60 °С** в течение **10 мин**.

8.1.2.3. Перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.4. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в ячейки картриджа магнитный стержень на **2 мин**.

8.1.2.5. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из ячеек картриджа.

8.1.2.6. Добавить в пробирки по 500 мкл Буфера Е и удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из ячеек картриджа.

[10] Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

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

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера Е содержимое пробирок или ячеек картриджа не перемешивать.

8.1.2.7. Добавить в пробирки от **100** до **250 мкл Буфера Е** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать.

8.1.2.8. Прогреть пробирки при температуре **60 °С** в течение **5 мин** с включенным перемешиванием.

8.1.2.9. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в ячейки картриджа магнитный стержень на **2 мин**.

8.1.2.10. Вынуть магнитный стержень с силикой из ячеек картриджа или при использовании магнитного штатива перенести надосадочную жидкость в новую пробирку или плашку.

8.1.2.11. Элюат содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке реакции амплификации.

8.2. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включен ВКО, то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора, не используя ВКО-FL.

8.2.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.2.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный (ОК) и положительный (ПК) контроли, если они предусмотрены для проведения исследования). Промаркировать.

8.2.1.2. Перемешать взбалтыванием **Буфер L** и **Буфер Е**.

8.2.1.3. Перемешать **ВКО-FL** и осадить капли на вортексе.

8.2.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.2.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь **ВКО-FL** и **МГС**, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл ВКО-FL** и **10 мкл МГС**, также учитывая запас – на один образец больше (см. таблицу 5). Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Таблица 5

Пример расчета реагентов для смешивания

Количество образцов для экстракции ДНК	ВКО-FL, мкл	МГС, мкл
6	(10×6+10) = 70	(10×6+10) = 70

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

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с **ВКО-FL** и **МГС** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

8.2.2. Процедура экстракции ДНК

8.2.2.1. Внесение образцов

При проведении экстракции из образцов, взятых в транспортную среду для жидкостной цитологии

а) Внести в каждую пробирку с исследуемым образцом, подготовленным согласно п. 7.5.:

- по **20 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL** и **МГС** и по **200 мкл Буфера L**;

или

- по **220 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL**, **МГС** и **Буфера L.**

б) Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для контрольных образцов:

- по **20 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL** и **МГС** и по **200 мкл Буфера L**;

или

- по **220 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL**, **МГС** и **Буфера L.**

в) внести в пробирки контрольные образцы[11] (ОКО и ПКО, если они предусмотрены для проведения исследования) в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Перемешать содержимое пробирок.

При проведении экстракции из остальных образцов

а) Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

- по **20 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL** и **МГС** и по **200 мкл Буфера L**;

или

- по **220 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL**, **МГС** и **Буфера L.**

б) Внести в пробирки исследуемые и контрольные[11] (ОКО и ПКО, если они предусмотрены для проведения исследования) образцы в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.2.2.2. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**.

8.2.2.3. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.2.2.4. Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.2.2.5. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки

[11] Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

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

осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

8.2.2.6. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в них по **500 мкл Буфера Е**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера Е содержимое пробирок не перемешивать.

8.2.2.7. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.2.2.5.

8.2.2.8. Добавить в пробирки от **100** до **250 мкл Буфера Е** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать на вортексе.

8.2.2.9. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.2.2.10. Осадить капли на вортексе и переставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.2.2.11. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке реакции амплификации.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных ДНК для проведения амплификации осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

8.3. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включен ВКО, то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора, не используя ВКО-FL.

8.3.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.3.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный (ОК) и положительный (ПК) контроли, если они предусмотрены для проведения исследования). Промаркировать.

8.3.1.2. Перемешать взбалтыванием **Буфер L** и **Буфер Е**.

8.3.1.3. Перемешать **ВКО-FL** и осадить капли на вортексе.

8.3.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.3.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь **ВКО-FL** и **МГС**, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл ВКО-FL** и **10 мкл МГС**, также учитывая запас – на один образец больше (см. таблицу 6). Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

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

Таблица 6

Пример расчета реагентов для смешивания

Количество образцов для экстракции ДНК	ВКО-FL, мкл	МГС, мкл
6	(10×6+10) = 70	(10×6+10) = 70

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с **ВКО-FL** и **МГС** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 25 °С.

8.3.2. Процедура экстракции ДНК

8.3.2.1. Внесение образцов

При проведении экстракции из образцов, взятых в транспортную среду для жидкостной цитологии

а) Внести в каждую пробирку с исследуемым образцом, подготовленным согласно п. 7.5.:

- по **20 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL** и **МГС** и по **200 мкл Буфер L**;

или

- по **220 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL**, **МГС** и **Буфера L.**

б) Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для контрольных образцов:

- по **20 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL** и **МГС** и по **200 мкл Буфера L**;

или

- по **220 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL**, **МГС** и **Буфера L.**

в) внести в пробирки контрольные образцы[12] (ОКО и ПКО, если они предусмотрены для проведения исследования) в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Перемешать содержимое пробирок.

При проведении экстракции из остальных образцов

а) Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

- по **20 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL** и **МГС** и по **200 мкл Буфера L**;

или

- по **220 мкл** подготовленной **смеси ВКО-FL**, **МГС** и **Буфера L.**

б) Внести в пробирки исследуемые и контрольные[12] (ОКО и ПКО, если они предусмотрены для проведения исследования) образцы в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

[12] Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

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

8.3.2.2. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**.

8.3.2.3. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.4. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.5. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на **200 мкл** для каждой пробы.

8.3.2.6. Добавить в пробирки по **500 мкл Буфера Е**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера Е содержимое пробирок не перемешивать.

8.3.2.7. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.8. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.5.

8.3.2.9. Добавить в пробирки от **100** до **250 мкл Буфера Е** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать на вортексе.

8.3.2.10. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.3.2.11. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.12. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке реакции амплификации.

ВНИМАНИЕ! Внесение ДНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

8.4. Хранение очищенной ДНК

Очищенная ДНК может храниться при температуре от 2 до 8 °С в течение недели, при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение 6 месяцев и при температуре не выше минус 68 °С в течение года. Для этого необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1. Срок годности

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

9.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

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

Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С не более 3 суток.

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

9.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 8 °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. Смесь, приготовленную из Буфера L, ВКО-FL и МГС, хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 2 месяцев.

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

10. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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

Рекламации на качество набора реагентов «МагноПрайм ВПЧ» направлять в адрес производителя ООО «НекстБио»: 111394 г. Москва, ул. Полимерная, 8 стр. 2, тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru.

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, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в Российской Федерации – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru.

Версия 17.08.2020
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

11. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

REF	Номер по каталогу		Изготовитель
LOT	Код партии		Дата изготовления
IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Использовать до
Σ	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Символы опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		

IVD

АмплиПрайм

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: http://www.nextbio.ru/reagents/.

Краткое руководство

по применению набора реагентов для экстракции ДНК из биологического материала «МагноПрайм ВПЧ» по ТУ 21.20.23-060-09286667-2019

«МагноПрайм ВПЧ»

REF 107-Z

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ✓ соскобный материал или отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта (мазки со слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала (эктоцервикса и эндоцервикса, в том числе в транспортную среду для жидкостной цитологии), соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры;
- ✓ соскоб эпителия со слизистой оболочки прямой кишки.

ХРАНЕНИЕ ОЧИЩЕННОЙ ДНК

Температура	Длительность хранения
2 °C … 8 °C	7 дней
– 24 °C ... – 16 °C	6 месяцев
– 68 °C	12 месяцев

ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

СОСТАВ

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество	Заявления об опасности[1]
М-лизин  Опасно	Прозрачная жидкость	106,0	1 флакон	H301: Токсично при проглатывании, H310+H330: Смертельно при попадании на кожу или при вдыхании, H314: Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждение глаз, H317: При контакте с кожей может вызвать аллергическую реакцию, H410: Чрезвычайно токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями.
Буфер L  Опасно	Прозрачная жидкость[2]	24,0	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H302: Вредно при проглатывании, H311: Токсично при контакте с кожей, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H332: Вредно при вдыхании, H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями, EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Ф-буфер	Прозрачная жидкость	106,0	1 флакон	–
Ц-лизин	Прозрачная жидкость	11,0	1 флакон	–
Буфер Е	Прозрачная жидкость	77,0	1 флакон	–
МГС	Суспензия	1,10	1 пробирка	–
ОКО	Прозрачная жидкость	1,10	1 пробирка	–
ВКО-FL	Прозрачная жидкость	1,10	1 пробирка	–
Набор реагентов рассчитан на экстракцию ДНК из 96 образцов, включая контроли.				

ХРАНЕНИЕ

Условия хранения набора
2°C … 8° C

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	–
Инструкция по применению набора	в электронном виде по адресу: http://www.nextbio.ru/reagents/
Краткое руководство	в бумажном виде
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: http://www.nextbio.ru/passport/

[1] **ВНИМАНИЕ!** При работе с набором следует соблюдать меры предосторожности, описанные в инструкции по применению набора.
[2] При хранении Буфера L возможно образование осадка в виде кристаллов.

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

АВТОМАТИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ ДНК

ВНИМАНИЕ! Для материала, взятого в транспортную среду для жидкостной цитологии, требуется предварительная подготовка. Процедура подготовки описана в инструкции по применению набора.

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции нуклеиновых кислот необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную ниже.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включен ВКО, то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора, не используя ВКО-FL.

1. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования).
2. Допускается внесение всего содержимого пробирок с **ВКО-FL** и **МГС** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматических станций, имеющих картриджи с ячейками, **образцы**, подготовленные согласно п. 7.5. инструкции по применению набора, **перенести в полном объеме** в ячейки картриджа, используя для каждого образца отдельный наконечник.

3. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных образцов, используя для каждого образца отдельный наконечник, реагенты/образцы согласно приведенной ниже таблице.

ВНИМАНИЕ! Для образцов, взятых в транспортную среду для жидкостной цитологии, реагенты (МГС, ВКО-FL и Буфер L) вносятся в каждую пробирку с исследуемым образцом, подготовленным согласно процедуре предварительной подготовки, приведенной в инструкции по применению набора.

Добавляемый реагент / образец		
при раздельном внесении реагентов		
МГС	10 мкл	в каждую пробирку
ВКО-FL	10 мкл	в каждую пробирку
Буфер L	200 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[3]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
Отрицательный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ОК (отрицательного контроля)
Положительный контрольный образец[4]	100 мкл	в пробирку для ПК (положительного контроля)
при внесении предварительно подготовленной смеси МГС, ВКО-FL и Буфера L		
Смесь МГС, ВКО-FL и Буфера L	220 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[3]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
Отрицательный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ОК (отрицательного контроля)
Положительный контрольный образец[4]	100 мкл	в пробирку для ПК (положительного контроля)

4. Перемешать содержимое пробирок.
5. Прогреть пробирки при температуре **60 °С** в течение **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок.
6. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
7. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.
8. Добавить в пробирки по **500 мкл Буфера Е** и удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера Е содержимое пробирок не перемешивать.

9. Добавить в пробирки от **100** до **250 мкл Буфера Е** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать.
10. Прогреть пробирки при температуре **60 °С** в течение **5 мин** с включенным перемешиванием.
11. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
12. Вынуть магнитный стержень с силикой из пробирок или при использовании магнитного штатива перенести надосадочную жидкость в новую пробирку или плашку.
13. Элюат содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке реакции амплификации.

Для хранения ДНК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

[3] Для образцов, взятых в транспортную среду, содержащую муколитик или изотонический водно-солевой раствор с консервантом.
[4] Если образец предусмотрен для проведения исследования.

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

РУЧНАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАГНИТНОГО ШТАТИВА

ВНИМАНИЕ! Для материала, взятого в транспортную среду для жидкостной цитологии, требуется предварительная подготовка. Процедура подготовки описана в инструкции по применению набора.

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включен ВКО, то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора, не используя ВКО-FL.

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный и положительный контроли, если они предусмотрены для проведения исследования). Промаркировать.
2. Перемешать взбалтыванием **Буфер L** и **Буфер Е**. Перемешать **ВКО-FL** и осадить капли на вортексе.
3. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
4. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл **смесь МГС** и **ВКО-FL**, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл МГС** и **10 мкл ВКО-FL**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.
   Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с **МГС** и **ВКО-FL** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.
5. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов, используя для каждого образца отдельный наконечник, реагенты/образцы согласно приведенной ниже таблице.

ВНИМАНИЕ! Для образцов, взятых в транспортную среду для жидкостной цитологии, реагенты (МГС, ВКО-FL и Буфер L) вносятся в каждую пробирку с исследуемым образцом, подготовленным согласно процедуре предварительной подготовки, приведенной в инструкции по применению набора.

Добавляемый реагент / образец		
при внесении предварительно подготовленной смеси МГС и ВКО-FL		
Смесь МГС и ВКО-FL	20 мкл	в каждую пробирку
Буфер L	200 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[5]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
Отрицательный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ОК (отрицательного контроля)
Положительный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ПК (положительного контроля)
при внесении предварительно подготовленной смеси МГС, ВКО-FL и Буфера L		
Смесь МГС, ВКО-FL и Буфера L	220 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[5]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
Отрицательный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ОК (отрицательного контроля)
Положительный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ПК (положительного контроля)

6. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.
7. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**.
8. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе. Перенести в магнитный штатив на **2 мин.**
9. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.
10. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в них по **500 мкл Буфера Е**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера Е содержимое пробирок не перемешивать.

11. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 9.
12. Добавить в пробирки от **100** до **250 мкл Буфера Е** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации). Перемешать на вортексе.
13. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
14. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.
15. Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.
16. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке реакции амплификации.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Для хранения ДНК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

[5] Для образцов, взятых в транспортную среду, содержащую муколитик или изотонический водно-солевой раствор с консервантом.

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

РУЧНАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ

ВНИМАНИЕ! Для материала, взятого в транспортную среду для жидкостной цитологии, требуется предварительная подготовка. Процедура подготовки описана в инструкции по применению набора.

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО, то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора, не используя ВКО-FL.

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный и положительный контроли, если они предусмотрены для проведения исследования). Промаркировать.
2. Перемешать взбалтыванием **Буфер L** и **Буфер E**. Перемешать **ВКО-FL** и осадить капли на вортексе.
3. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
4. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь **МГС** и **ВКО-FL**, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл МГС** и **10 мкл ВКО-FL**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.
   Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с **МГС** и **ВКО-FL** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.
5. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов, используя для каждого образца отдельный наконечник, реагенты/образцы согласно приведенной ниже таблице.

ВНИМАНИЕ! Для образцов, взятых в транспортную среду для жидкостной цитологии, реагенты (МГС, ВКО-FL и Буфер L) вносятся в каждую пробирку с исследуемым образцом, подготовленным согласно процедуре предварительной подготовки, приведенной в инструкции по применению набора.

Добавляемый реагент / образец		
при внесении предварительно подготовленной смеси МГС и ВКО-FL		
Смесь МГС и ВКО-FL	20 мкл	в каждую пробирку
Буфер L	200 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[6]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
Отрицательный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ОК (отрицательного контроля)
Положительный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ПК (положительного контроля)
при внесении предварительно подготовленной смеси МГС, ВКО-FL и Буфера L		
Смесь МГС, ВКО-FL и Буфера L	220 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы[6]	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
Отрицательный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ОК (отрицательного контроля)
Положительный контрольный образец	100 мкл	в пробирку для ПК (положительного контроля)

6. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.
7. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**.
8. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
9. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
10. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.
11. Добавить в пробирки по **500 мкл Буфера E**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера E содержимое пробирок не перемешивать.

13. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
14. Добавить в пробирки от **100** до **250 мкл Буфера E** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать на вортексе.
15. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.
16. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
17. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке реакции амплификации.

ВНИМАНИЕ! Внесение ДНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

Для хранения ДНК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

[6] Для образцов, взятых в транспортную среду, содержащую муколитик или изотонический водно-солевой раствор с консервантом.

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