



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот вирусов из крови
с предварительным концентрированием

ПРОБА-НК-УЛЬТРА

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2022/16810 от 16 июня 2025 года

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	5
2.1	Состав набора реагентов.....	5
2.2	Количество анализируемых образцов.....	5
2.3	Принцип метода	5
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	6
3.1	Минимальный объём биоматериала, из которого могут быть выделены нуклеиновые кислоты	6
3.2	Интерферирующие вещества	6
3.3	Эффективность набора реагентов	6
3.4	Медицинские изделия, для которых предназначен набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот.....	6
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	7
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	10
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	11
6.1	Материал для исследования	11
6.2	Общие требования	11
6.3	Взятие образцов периферической крови	11
6.4	Транспортирование и хранение образцов биологического материала	11
6.5	Получение плазмы/сыворотки крови	12
7	ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ	13
7.1	Подготовка образцов плазмы/сыворотки к выделению НК.....	13
7.2	Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот	13
7.3	Подготовка набора реагентов	14
7.4	Подготовка и проведение выделения НК	15
7.5	Хранение и использование препарата НК	19
8	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	20
8.1	Транспортирование	20
8.2	Хранение.....	20
8.3	Указания по эксплуатации.....	20
9	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	21
10	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	21
11	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	21
12	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	21
13	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	22
14	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	23

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

HBV	- от англ. Hepatitis B virus
HCV	- от англ. Hepatitis C virus
RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
ВК	- внутренний контроль
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
ДНК-ВК	- внутренний контрольный образец (ДНК-ВК)
ИВ	- интерферирующие вещества
К-	- отрицательный контрольный образец
кДНК	- комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота
ЛКО	- лабораторный контрольный образец
НК	- нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК)
ОТ	- обратная транскрипция
ОТ-ПЦР	- обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РНКазаы	- рибонуклеазы
РНК-ВК	- внутренний контрольный образец (РНК-ВК)
ЭДТА	- этилендиаминтетраацетат

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот вирусов из крови с предварительным концентрированием (ПРОБА-НК-УЛЬТРА), далее по тексту набор реагентов.

1.2 Назначение: набор реагентов предназначен для выделения ДНК/РНК вирусов из плазмы крови, сыворотки крови с предварительным концентрированием для последующего анализа методом ПЦР/ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

1.3 Функциональное назначение: вспомогательное средство для диагностики *in vitro*.

1.4 Показания к проведению исследования: необходимость выделения ДНК/РНК вирусов из плазмы крови, сыворотки крови.

Противопоказаний к применению нет.

1.5 Популяционные и демографические аспекты: применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.6 Область применения: набор реагентов может быть использован в клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

1.7 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, осуществляющий взятие и предобработку клинического материала, а также специалисты, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в установленном порядке: врач клинко-диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (медицинский лабораторный техник).

1.8 Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

REF P-017-N/1			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество флаконов	Номинальный объём компонента
Концентрирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость. Допускается наличие осадка, растворяющегося при нагревании	1 флакон	80 мл
Лизирующий раствор	Светло-голубая пенящаяся жидкость. Допускается наличие кристаллов, растворяющихся при нагревании	1 флакон	30 мл
Реагент для преципитации	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл
Промывочный раствор №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	50 мл
Промывочный раствор №2	Прозрачная бесцветная жидкость	2 флакона	по 25 мл
Буфер для растворения	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл
Отрицательный контрольный образец	Прозрачная или опалесцирующая желтая жидкость	1 флакон	42 мл

Все компоненты набора реагентов готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

Комплектность:

- Набор реагентов – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 экз.
- Паспорт – 1 экз.

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 100 анализируемых образцов, включая калибровочные образцы и отрицательные контрольные образцы. В случае подготовки образцов для количественного исследования производитель гарантирует достаточность реагентов для 5 независимых процедур выделения по 7 неизвестных образцов. В случае подготовки образцов для качественного исследования производитель гарантирует достаточность реагентов для 5 независимых процедур выделения по 19 неизвестных образцов.

2.3 Принцип метода

Принцип метода основан на обработке образца многокомпонентным реагентом, концентрирующим нуклеиновые кислоты из объёма первичного образца, лизисом полученного концентрата (осадка), спиртовой преципитацией нуклеиновых кислот, отмывкой и последующим растворением нуклеиновых кислот в буфере. После этого образец готов к постановке ПЦР или ОТ-ПЦР.

Предварительное концентрирование образца позволяет повысить чувствительность детекции возбудителей в биологическом материале.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Минимальный объем биоматериала, из которого могут быть выделены нуклеиновые кислоты: 250 мкл.

Рекомендуемый объем биоматериала для повышения чувствительности исследования: 500 мкл и 1000 мкл.

3.2 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых/недостоверных) результатов. Признаком ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на проведение обратной транскрипции и амплификации лабораторного контрольного образца и внутреннего контрольного образца составили: триглицеридов до 40 ммоль/л образца плазмы/сыворотки, гемоглобина – до 2,0 г/л, билирубина – до 340 мкмоль/л, общий белок – 60 г/л.

3.3 Эффективность набора реагентов

Эффективность выделения РНК HCV – 100% (97,8–100%), подтверждено при исследовании 60 образцов плазмы/сыворотки крови, в сравнении с референтным методом.

Эффективность выделения ДНК HBV – 100% (97,8–100%), подтверждено при исследовании 60 образцов плазмы/сыворотки крови, в сравнении с референтным методом.

3.4 Медицинские изделия, для которых предназначен набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот:

Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот вирусов из крови с предварительным концентрированием (ПРОБА-НК-УЛЬТРА) может быть использован совместно с наборами реагентов, предназначенными для анализа нуклеиновых кислот методом ПЦР и ОТ-ПЦР.

Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот вирусов из крови с предварительным концентрированием (ПРОБА-НК-УЛЬТРА) валидирован со следующими наборами реагентов, предназначенными для анализа нуклеиновых кислот методом ПЦР/ОТ-ПЦР:

- Набор реагентов для выявления РНК вируса гепатита С (HCV) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (HCV), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/18157;
- Набор реагентов для количественного определения РНК вируса гепатита С (HCV) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (HCV Количественный), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/17614;
- Набор реагентов для количественного определения ДНК вируса гепатита В (HBV) методом ПЦР в режиме реального времени (HBV Количественный), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия;
- Набор реагентов для выявления ДНК вируса гепатита В (HBV) методом ПЦР в режиме реального времени (HBV), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15190-2023, 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», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

К работе с набором реагентов допускается специально обученный персонал с высшим или средним медицинским, или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики.

Неизвестные образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

При работе с микроорганизмами I-IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с СанПиН 3.3686-21 и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

Каждый этап анализа должен проводиться в самостоятельных рабочих зонах (помещениях). Выделение НК следует проводить в боксах биологической безопасности II-III класса с включенным ламинарным потоком.

Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое.

Дозаторы, используемые при работе с набором реагентов, должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится выделение НК, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники и др.) должны сбрасываться в контейнер для медицинских отходов, содержащий дезинфицирующий раствор.

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных правилами и нормами СанПиН 3.3686-21.

При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасного компонента	Указание на риски
Концентрирующий раствор	Гесадецетилтриметил аммония бромид	H302, H315, H318, H335, H412
	Тетрадецилтриметил аммония бромид	H302, H315, H318, H335, H412
Лизирующий раствор	Гуанидина тиоционат	H302, H312, H332, H412
	Тиоглицерол	H302, H312, H315, H319, H332
	Тритон X-100	H302, H313, H318, H411
Реагент для преципитации	Изопропанол	H225, H319, H336
Промывочный раствор №1		
Промывочный раствор №2	Метилацетат	H225, H313, H319, H336, H370
Буфер для растворения	Нет опасных веществ	–
Отрицательный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
H225 – Легковоспламеняющиеся жидкость и пары; H302 – Вредно при проглатывании; H312 – Вредно при контакте с кожей; H313 – Острая токсичность (кожная); H315 – Вызывает раздражение кожи; H318 – Вызывает серьезные повреждения глаз; H319 – Вызывает раздражение глаз; H332 – Вредно при вдыхании; H335 – Может вызвать раздражение дыхательных путей; H336 – Может вызывать сонливость и головокружение; H370 – специфическая избирательная токсичность, поражающая отдельные органы-мишени при однократном воздействии; H373 – Может поражать органы (Желудочно-кишечный тракт) в результате многократного или продолжительного воздействия при проглатывании; H411 – Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями; H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.		

Набор реагентов содержит вещества биологического происхождения (сыворотка крови) в отрицательном контрольном образце. Вещества биологического происхождения (сыворотка крови) для изготовления набора реагентов поставляются стерильными. Компонент является безопасным для конечного пользователя и не требует соблюдения специальных мер предосторожности.

При работе с набором реагентов следует использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками, не глотать. При аварийных ситуациях возможно следующее: раздражение кожи и слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц. При контакте промыть пораженное место большим количеством воды и обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности контакт с организмом человека исключён.

Не использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора реагентов;
- по истечению срока годности набора реагентов.

Примечание – Набор реагентов **не содержит** веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

Оборудование, реагенты и расходные материалы	Выделение из 1000 мкл	Выделение из 500 мкл	Выделение из 250 мкл
бокс биологической безопасности II класса	да	да	да
термостат твердотельный, поддерживающий температуру до 65 °С	да	да	да
центрифуга для пробирок типа Vacuette с RCF (g) не ниже 1600	да	да	да
центрифуга для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5–2,0 мл, с RCF(g) не ниже 14000; допускается использование центрифуги без охлаждения	да	да	да
микроцентрифуга-вортекс	да	да	да
холодильник с морозильной камерой	да	да	да
вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с солью ЭДТА или цитратом натрия	да	да	да
пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз	нет	да	да
пробирки микроцентрифужные объемом 2,0 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз	да	нет	нет
штатив «рабочее место» для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 мл	нет	да	да
штатив «рабочее место» для микроцентрифужных пробирок объемом 2,0 мл	да	нет	нет
дозаторы механические или электронные переменного объема одноканальные, позволяющие отбирать объемы жидкости 2,0–20 мкл, 20–200 мкл, 200–1000 мкл	да	да	да
штатив для дозаторов	да	да	да
одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл	да	да	да
электрический лабораторный аспиратор с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей	да	да	да
одноразовые наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз, для электрического лабораторного аспиратора	да	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да	да
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да	да
дезинфицирующее средство	да	да	да

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют плазму крови и сыворотку крови, полученные из цельной периферической крови человека.

6.2 Общие требования

6.2.1 Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортирование и предварительная обработка. Неправильное взятие биоматериала может привести к получению недостоверных результатов и, вследствие этого, необходимости его повторного взятия.

6.2.2 На этапе подготовки биоматериала используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

6.2.3 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить биологический материал, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой.

6.3 Взятие образцов периферической крови

ВНИМАНИЕ! Перед выделением НК требуется подготовка образцов периферической крови (6.5).

Ограничение метода: внутривенные инъекции гепарина, инфузии препаратов для парентерального питания менее чем за 6 часов до исследования.

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 2,0 – 6,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия (если это не противоречит требованиям к ПЦР/ОТ-ПЦР-набору реагентов, применяемому совместно с набором реагентов ПРОБА-НК-УЛЬТРА). Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2–3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

Допускается использование пробирок с активатором образования сгустка и разделительным гелем.

При взятии материала следует заполнять пробирку до метки наполнения

6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала

Примечание – Рекомендуется проводить получение плазмы и сыворотки в течение 6 часов после взятия материала.

Транспортировать и хранить образцы цельной крови и пробирки с сывороткой до начала исследования следует при температуре от 2 °С до 8 °С не более 12 часов.

ВНИМАНИЕ! Не допускается замораживание цельной крови!

Примечание – Не рекомендуется транспортирование и хранение пробирок с сывороткой при температуре ниже 0 °С во избежание повреждения геля и загрязнения образца продуктами гемолиза и фрагментами геля.

6.5 Получение плазмы/сыворотки крови

Центрифугируйте пробирки с кровью при RCF(g) 800–1600 в течение 20 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

После центрифугирования отберите с помощью дозатора верхнюю фракцию (плазма/сыворотка), не затрагивая разделительный гель (в случае использования пробирок с разделительным гелем), и перенесите в отдельную пластиковую пробирку объемом 1,5–2,0 мл.

Пробирки с сывороткой и разделительным гелем центрифугируют однократно для отделения сыворотки.

ВНИМАНИЕ!

1. В случае использования пробирок с разделительным гелем повторное центрифугирование запрещено во избежание повреждения геля и загрязнения образца продуктами гемолиза.
2. Избегайте попадания геля в образец сыворотки, так как он может вызвать ингибирование ПЦР/ОТ-ПЦР.

Допускается хранение полученной плазмы/сыворотки при температуре от 2 °С до 8 °С не более 5 суток, при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более 3 месяцев, при температуре от минус 72 °С до минус 68 °С не более одного года.

ВНИМАНИЕ! Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов плазмы/сыворотки.

7 ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Для предупреждения кросс-контаминации биоматериалом в лаборатории рекомендуется выполнение следующих правил:

1. Необходимо проводить визуальную оценку поступившего биоматериала и выбраковку всех образцов, если среди них есть пробирки с нарушенной герметичностью.
2. Обязательно выполнять постановку отрицательных контрольных образцов, начиная с этапа выделения нуклеиновых кислот, в каждом протоколе.
3. Использовать на всех этапах исследования наконечники с аэрозольными фильтрами.
4. Четко соблюдать методику выполнения исследования, открывать пробирки типа Эппендорф при помощи пинцета (не допускать касаний руки в перчатке внутренней части крышки пробирки); при внесении реагентов не касаться наконечником пробирки (если это произошло, сразу заменить наконечник).

7.1 Подготовка образцов плазмы/сыворотки к выделению НК

Подготовка образцов плазмы/сыворотки крови проводится в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 – Режимы подготовки образцов плазмы/сыворотки крови

Температура хранения образцов плазмы/сыворотки	Подготовка образцов плазмы/сыворотки
От минус 18 °С и ниже	1. Разморозьте образцы плазмы/сыворотки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С. 2. Перемешайте содержимое пробирок с образцами плазмы/сыворотки на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте при RCF(g) 14000 в течение 5 мин.
	ВНИМАНИЕ! Для выделения НК необходимо использовать надосадочную жидкость, не затрагивая осадка (при его наличии).
От 2 °С до 8 °С	Перемешайте содержимое пробирок с образцами плазмы/сыворотки на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.2 Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот

Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот регламентировано инструкциями по применению наборов реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР.

Для исключения ложноотрицательных результатов исследования и контроля качества исследования рекомендуется использование внутреннего контроля.

Внутренний контрольный образец следует добавлять в анализируемые образцы на этапе выделения нуклеиновых кислот. Внутренний контрольный образец добавляют в анализируемый образец в количестве, указанном в инструкции по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР.

Для исключения ложноположительных результатов исследования и контроля качества исследования обязательно использование **отрицательного контрольного образца**, начиная с этапа выделения нуклеиновых кислот, одновременно с выделением нуклеиновых кислот вирусов из неизвестных образцов.

При проведении количественных исследований могут быть использованы **калибровочные образцы** (в соответствии с инструкциями по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР). Калибровочные образцы должны быть использованы начиная с этапа выделения нуклеиновых кислот одновременно с выделением нуклеиновых кислот вирусов из неизвестных образцов. Подготовка калибровочных образцов проводится в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ!

1. На этапе выделения нуклеиновых кислот, за исключением этапа отбора надосадочной жидкости с использованием аспиратора, необходимо использовать только наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз. При работе с аспиратором используйте наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз.
2. Используемые наконечники меняйте при каждом удалении раствора из пробирки.
3. Для предотвращения контаминации следует перед внесением образцов открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать её перед внесением следующего.
4. При добавлении раствора в пробирку, содержащую биологический материал, вносите раствор аккуратно, не касаясь стенок пробирки. При касании стенки пробирки смените наконечник.

7.3 Подготовка набора реагентов

Перед началом работы необходимо:

- включить термостат для прогрева до 65 °С;
- прогреть флаконы с концентрирующим и лизирующим растворами на термостате, предварительно прогревом до 65 °С, в течение 15 мин. Затем следует перемешать растворы переворачиванием флакона вверх дном 5–10 раз, избегая пенообразования. Если концентрирующий и лизирующий растворы хранили при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С), то предварительный прогрев не требуется.

Реагент для преципитации и промывочный раствор №1 использовать в работе охлажденными для лучшей визуализации осадка. Для этого рекомендуется хранить их в холодильнике и доставать их из холодильника непосредственно перед работой. Если реагент для преципитации и промывочный раствор №1 хранили при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С), то перед началом работы их следует охладить.

7.4 Подготовка и проведение выделения НК

ВНИМАНИЕ! При прогревании пробирок с образцами возможно открывание крышек! Следует использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.», ООО «НПО ДНК-Технология»).

7.4.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объёмом 1,5–2,0 мл:

- по одной пробирке для каждого неизвестного образца плазмы/сыворотки;
 - одну пробирку для отрицательного контрольного образца «К–»;
- если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»¹**, промаркируйте дополнительно:
- три пробирки для калибровочного образца «СТ1»;
 - три пробирки для калибровочного образца «СТ2».

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 5 независимых процедур выделения при условии переменного количества неизвестных образцов и 1 отрицательного контрольного образца «К–» в каждой постановке. В случае если полученные НК будут использоваться для количественных исследований и использование калибровочных образцов предусмотрено в инструкции по применению набора реагентов для количественного исследования, допускаются дополнительно 3 пробирки для калибровочного образца «СТ1» и 3 пробирки для калибровочного образца «СТ2» в каждой постановке.

7.4.2 Внесите контрольные и калибровочные образцы в соответствии с инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов.

В случае использования набора реагентов ПРОБА-НК-УЛЬТРА совместно с **наборами реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»** внесите во все промаркированные пробирки:

- при выделении РНК – по 10 мкл РНК-ВК "А";
- при выделении ДНК – по 10 мкл ДНК-ВК "А";
- в случае одновременного выделения РНК и ДНК – по 10 мкл РНК-ВК "А" и по 10 мкл ДНК-ВК "А".

¹ – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

Примечания:

1. При выделении нуклеиновых кислот из 1000 мкл образца допускается добавление концентрирующего раствора по 500 мкл на образец. Однако следует учитывать, что снижение вносимого объема концентрирующего раствора будет приводить к формированию большего количества белкового осадка. Это, в свою очередь, может затруднить процедуру выделения нуклеиновых кислот.
2. При малом объеме исследуемого материала допускается выделение нуклеиновых кислот из 500 и 250 мкл образца. В этом случае используйте концентрирующий раствор из расчета 250 мкл концентрирующего раствора на 500 мкл образца и 125 мкл концентрирующего раствора на 250 мкл образца.
- 7.4.3 Добавьте в каждую пробирку по 800 мкл/250 мкл/125 мкл концентрирующего раствора (в зависимости от объема образца, из которого будет производиться выделение НК).
- 7.4.4 Перемешайте содержимое пробирок с отрицательным контрольным образцом и калибровочными образцами на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.4.5 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 1000 мкл/500 мкл/250 мкл предварительно подготовленных образцов плазмы/сыворотки крови, закройте пробирки. В пробирки, промаркированные «К–», «СТ1» и «СТ2», образцы плазмы/сыворотки не вносятся.
- 7.4.6 Внесите в пробирку, промаркированную «К–», 1000 мкл/500 мкл/250 мкл отрицательного контрольного образца, закройте пробирку.
- 7.4.7 Если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»¹**, внесите в пробирки, промаркированные «СТ1» и «СТ2» (3 шт. для каждого калибровочного образца), по 20 мкл соответствующего калибровочного образца и по 980 мкл/480 мкл/230 мкл отрицательного контрольного образца. Закройте пробирки.

Примечание – В случае количественного исследования нескольких инфекций допускается приготовление комплексных калибровочных образцов. Для этого необходимо внести в каждую пробирку, предназначенную для СТ1 по 20 мкл калибровочного образца СТ1 из каждого набора реагентов; в каждую пробирку, предназначенную для СТ2 по 20 мкл калибровочного образца СТ2 из каждого набора реагентов. Далее необходимо довести окончательный объем в каждой пробирке до 1000 мкл/500 мкл/250 мкл отрицательным контрольным образцом.

¹ – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

Пример:

1. При выделении из 1000 мкл:

Если предполагается количественное исследование HCV и HBV в одной постановке, то следует внести в пробирки СТ1 по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ1 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный»; в пробирки СТ2 – по 20 мкл HCV-СТ2 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл HBV-СТ2 из набора реагентов «HBV Количественный». Далее в каждую пробирку необходимо внести по 960 мкл отрицательного контрольного образца.

2. При выделении из 500 мкл:

Если предполагается количественное исследование HCV и HBV в одной постановке, то следует внести в пробирки СТ1 по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ1 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный»; в пробирки СТ2 – по 20 мкл HCV-СТ2 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл HBV-СТ2 из набора реагентов «HBV Количественный». Далее в каждую пробирку необходимо внести по 460 мкл отрицательного контрольного образца.

3. При выделении из 250 мкл:

Если предполагается количественное исследование HCV и HBV в одной постановке, то следует внести в пробирки СТ1 по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ1 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный»; в пробирки СТ2 – по 20 мкл HCV-СТ2 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл HBV-СТ2 из набора реагентов «HBV Количественный». Далее в каждую пробирку необходимо внести по 210 мкл отрицательного контрольного образца.

7.4.8 Встряхните все пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.4.9 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 560–800 в течение 3 мин при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C).

Примечание – Количество и характер образующегося осадка зависят от индивидуальных особенностей клинического образца и объема, из которого производится выделение нуклеиновых кислот. При выделении нуклеиновых кислот из 1000 мкл образца рекомендуется проводить центрифугирование при RCF(g) 560; при выделении из 250–500 мкл – при RCF(g) 800.

7.4.10 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником для каждой пробирки).

Примечание – В пробирках с отрицательным контрольным образцом, калибровочными образцами «СТ1» и «СТ2», а также в некоторых пробирках с неизвестными образцами осадок может не визуализироваться.

7.4.11 Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора. Закройте пробирки.

- 7.4.12 Встряхните все пробирки на микроцентрифуге-вортке в течение 10–15 с.
- 7.4.13 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 15 мин до полного растворения осадка. В течение инкубирования необходимо 2 раза встряхнуть пробирки с интервалом в 5 мин на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

Примечание – В случае сильной неоднородности лизатов уточните параметры центрифугирования, так как превышение оптимальных значений RCF/RPM может приводить к формированию осадков, трудно растворимых лизирующим буфером.

- 7.4.14 Встряхните все пробирки на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с.
- 7.4.15 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 14000 или на микроцентрифуге-вортке в течение 30 с.
- 7.4.16 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл предварительно охлажденного реагента для преципитации. Закройте пробирки.
- 7.4.17 Встряхните все пробирки на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с.
- 7.4.18 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 14000 в течение 10 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
- 7.4.19 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.4.20 Добавьте к осадку 500 мкл промывочного раствора №1, закройте пробирки и 3–5 раз аккуратно переверните каждую пробирку.
- 7.4.21 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 14000 в течение 1 мин.
- 7.4.22 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.4.23 Добавьте к осадку 500 мкл промывочного раствора №2, закройте пробирки и 3–5 раз аккуратно переверните каждую пробирку. Необходимо переворачивать каждую пробирку индивидуально.
- 7.4.24 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 14000 в течение 1 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
- 7.4.25 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.4.26 Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
- 7.4.27 Добавьте к осадку по 100 мкл буфера для растворения. Закройте пробирки.
- 7.4.28 Встряхните пробирки в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортке.
- 7.4.29 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 10 мин.
- 7.4.30 Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.
- 7.4.31 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 14000 в течение 30 с.
- Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР.

7.5 Хранение и использование препарата НК

- 7.5.1 Если предполагается использование препарата НК для постановки ОТ или ОТ-ПЦР (исследование РНК), допускается хранение препарата НК при температуре от 2 °С до 8 °С не более двух часов.
- 7.5.2 Если предполагается использование препарата НК для постановки ПЦР (исследование ДНК), допускается хранение препарата НК при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более одного месяца или при температуре от минус 72 °С до минус 68 °С не более 1 года, не размораживая до постановки.
- 7.5.3 Если препараты НК хранились при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С или от минус 72 °С до минус 68 °С, перед использованием необходимо разморозить препараты НК, отрицательный контрольный образец и калибровочные образцы при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Для препарата НК допускается только однократное размораживание!

- 7.5.4 Перед использованием препарата НК для постановки ПЦР/ОТ-ПЦР после хранения встряхните пробирки с препаратом НК, отрицательным контрольным образцом и калибровочными образцами на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР.

8 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

8.1 Транспортирование

- 8.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.
- 8.1.2 Допускается транспортирование набора реагентов в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.
- 8.1.3 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8.2 Хранение

- 8.2.1 Все компоненты набора реагентов следует хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора реагентов.
- 8.2.2 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

8.3 Указания по эксплуатации

- 8.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению.
- 8.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.
- 8.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:
- концентрирующий раствор, лизирующий раствор, промывочный раствор №2 допускается хранить при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение всего срока годности набора реагентов. Лизирующий раствор следует хранить в защищённом от света месте;
 - отрицательный контрольный образец, буфер для растворения следует хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
 - реагент для преципитации, промывочный раствор №1 следует хранить при температуре от 2 °С до 25 °С и использовать в работе охлажденными в течение всего срока годности набора реагентов.
- 8.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

9 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

- 9.1** При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.
- 9.2** Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

10 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

- 10.1** Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.
- 10.2** Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

11 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для однократного применения и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

12 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Температурный диапазон		Номер по каталогу
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Изготовитель
	Использовать до		Не допускать воздействия солнечного света
	Код партии (серии)		Нестерильно
	Дата изготовления		Осторожно!

13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ Р 2.105-2019 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам

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

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

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

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального использования

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

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

ГОСТ Р ИСО 15190-2023 Лаборатории медицинские. Требования безопасности.

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем при пользовании документом целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.

14 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения, и ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС», ООО «ДНК-Технология ТС», Россия.

Адрес производителя: 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства: ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

Служба клиентской поддержки:

8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный)

+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный)

E-mail: hotline@dna-technology.ru

www.dna-technology.ru