

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Директор ФБУН  
НИИ эпидемиологии и  
микробиологии имени Пастера

\_\_\_\_\_ А.А. Тоголян

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 г.

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

Набор реагентов для выделения ДНК из биологического материала  
(ЭКСТРА-преп PS)

## Оглавление

1. Назначение для использования .....	3
1.2 Тип анализируемого образца.....	3
1.3 Требования в отношении подготовки пользователей .....	3
1.4 Целевой анализ .....	3
2. Характеристика МИ .....	3
2.1 Принцип метода.....	3
2.2 Состав Набора реагентов .....	4
2.3 Функциональные показатели МИ.....	4
2.3.1 Эффективность выделения ДНК.....	4
2.3.2 Чистота выделенной ДНК .....	4
2.3.3 Интерферирующие вещества .....	4
3. Меры предосторожности .....	5
3.1 Общие требования.....	5
3.2 Меры предосторожности при использовании Набора реагентов.....	5
4. Требуемое дополнительное оборудование и материалы.....	7
5. Анализируемые пробы и пробоподготовка .....	8
5.1 Сухие пятна крови на ДНК-картах (картах Гатри) .....	8
5.2 Цельная кровь .....	9
6. Процедура выделения ДНК.....	9
6.1 Условия проведения процедуры исследования.....	9
6.2 Меры предотвращения контаминации (загрязнения ДНК).....	9
6.3 Требования к персоналу.....	10
6.4 Процедура выделения ДНК из исследуемого материала .....	11
6.4.1 Процедура выделения ДНК из цельной крови .....	11
6.4.1 Процедура выделения ДНК из сухих пятен крови.....	12
7. Условия транспортирования МИ.....	15
8. Хранение.....	15
9. Указания по безопасной утилизации.....	15
10. Гарантии производителя.....	15
11. Ремонт и техническое обслуживание .....	16
12. Объяснение используемых символов.....	16
13. Контактная информация для обращений .....	17
14. Информация о пересмотре настоящей Инструкции .....	17

Настоящая инструкция содержит информацию, необходимую для правильного и безопасного применения медицинского изделия (МИ) для диагностики *in vitro* «Набор реагентов для выделения ДНК из биологического материала (ЭКСТРА-преп PS)» (далее по тексту – Набор реагентов или МИ), разработанного и произведенного Федеральным бюджетным учреждением науки Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера).

### **1. Назначение для использования**

Набор реагентов предназначен для выделения ДНК из биологического материала (цельной крови с ЭДТА, сухих пятен крови на ДНК-картах (картах Гатри)) для дальнейшего исследования целевых нуклеотидных последовательностей ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

#### **1.2 Тип анализируемого образца**

Для выделения ДНК используются образцы цельной венозной крови (с ЭДТА), а также сухие пятна крови на ДНК-картах (картах Гатри).

#### **1.3 Требования в отношении подготовки пользователей**

Медицинское изделие предназначено только для профессионального применения.

К работе с МИ допускаются только специалисты, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке.

#### **1.4 Целевой анализ**

Набор реагентов не имеет измерительной функции и определение аналита не предусмотрено.

#### **1.5 Специфическая расстройство, состояние или фактор риска, для обнаружения которого предназначено МИ**

Набор реагентов не предназначен для обнаружения специфического расстройства, состояния или фактора риска.

## **2. Характеристика МИ**

### **2.1 Принцип метода**

Исследуемые пробы биологического материала (цельной крови, сухих пятен крови) смешивают с лизирующим буферным раствором, в результате чего происходит деструкция клеточных мембран, денатурация нуклеопротеиновых комплексов с последующим

высвобождением нуклеиновых кислот. Добавление осадителя ДНК приводит к преципитации нуклеиновых кислот.

Отмывка осадка раствором для отмывки способствует получению высокоочищенных концентрированных препаратов нуклеиновых кислот. На заключительном этапе осадок ДНК подсушивают и переводят в водную фазу с помощью буферного раствора для растворения ДНК. В таком виде препарат выделенной ДНК пригоден для исследований методами ПЦР.

## **2.2 Состав Набора реагентов**

Набор реагентов выпускается в одном варианте комплектации, рассчитанном на 100 выделений.

Таблица 1 – Состав Набора реагентов

<b>№ п/п</b>	<b>Наименование реагента</b>	<b>Объем, мл</b>	<b>Количество, шт.</b>
1.	Лизирующий буферный раствор	50,0	1
2.	Осадитель ДНК	55,0	1
3.	Раствор для отмывки	50,0	2
4.	Буферный раствор для растворения ДНК	1,5	4

Каждое изделие сопровождается инструкцией по применению и копией паспорта качества. Инструкция по применению и копия паспорта качества могут быть изготовлены в бумажном виде или на электронном носителе, или представлена на официальном сайте производителя (<https://pasteurog.ru>).

## **2.3 Функциональные показатели МИ**

### **2.3.1 Эффективность выделения ДНК**

Показатель эффективности выделения ДНК, рассчитанный как процентное соотношение содержания выделенной ДНК к теоретическому содержанию ДНК в стандартном образце, составляет не менее 30 %.

### **2.3.2 Чистота выделенной ДНК**

Показатель чистоты выделенной ДНК, оцениваемый по соотношению значений оптических плотностей в выделенном препарате ДНК при 260 и 280 нм с компенсацией фона при 340 нм, составляет не менее 1,7.

### **2.3.3 Интерферирующие вещества**

Процесс выделения ДНК из образцов цельной крови и сухих пятен крови с помощью Набора реагентов не зависит от присутствия интерферентов. Однако эффективность дальнейшего использования препарата выделенной ДНК для ПЦР может зависеть от

содержания в образцах потенциальных эндогенных (гемоглобин) и экзогенных интерферентов (гепарин, ЭДТА).

На эффективность реакции ПЦР не оказывает интерферирующее влияние присутствие гемоглобина в концентрациях до 250 г/л (верхняя граница нормы у новорожденных до 240 г/л, у мужчин до 170 г/л, у женщин до 150 г/л) и ЭДТА до 2,0 г/л включительно в исходном биологическом образце. Рекомендуется использование дикалиевой и трикалиевой солей ЭДТА в качестве коагулянта в конечной концентрации 2,0 г/л.

На эффективность реакции ПЦР оказывает ингибирующее действие присутствие гепарина. Нельзя использовать гепарин в качестве антикоагулянта. При терапии пациента гепарином также возможно ингибирование ПЦР, в этом случае рекомендуется использовать иные методы диагностики.

Для контроля влияния потенциально интерферирующих веществ, содержащихся в образце после выделения ДНК, на эффективность ПЦР может использоваться внутренний контрольный образец (ВКО), как правило, входящий в состав набора реагентов для ПЦР. ВКО добавляют в каждый биологический образец на этапе выделения нуклеиновых кислот. По окончании реакции амплификации наличие сигнала о накоплении фрагментов ДНК ВКО, свидетельствует об отсутствии ингибиторов ПЦР. В случае отсутствия сигнала необходимо повторное взятие образца, проведение повторного выделения ДНК и последующего анализа.

### **3. Меры предосторожности**

#### **3.1 Общие требования**

При использовании МИ требуется соблюдение мер биологической безопасности и асептической техники взятия биологических образцов. Следует исходить из предположения, что все собранные для исследования с применением МИ образцы представляют собой потенциально инфицированный материал, обращаться с которым следует, соблюдая меры предосторожности согласно п. 3.2.

#### **3.2 Меры предосторожности при использовании Набора реагентов**

При работе с потенциально инфицированными пробами необходимо соблюдать требования по организации работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот.

При работе с компонентами набора избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. Не допускать попадания в рот. При контакте

немедленно с кожей промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью. Снять загрязненную одежду.

Использовать одноразовые перчатки неопудренные, очки, лабораторные халаты. Проводить работы в боксе микробиологической безопасности. Все работы с набором реагентов должны проводиться с использованием приточно-вытяжной вентиляции, вдали от источников воспламенения, открытого огня, нагревания и искр. Тщательно вымыть руки по окончании работы.

Держать в плотно закрытой упаковке. Ликвидировать возможные проливы, утечки.

Использовать перчатки, спецодежду, средства защиты глаз, лица.

При попадании в глаза: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если они используются, и, если это легко сделать. Продолжить промывание глаз.

Если раздражение глаз не проходит обратиться за медицинской помощью.

При проглатывании: срочно прополоскать рот и выпить большое количество воды. Немедленно обратиться к врачу.

При работе с Набором реагентов также необходимо выполнять следующие требования:

- температура в помещении лаборатории должна быть от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75 %;

- одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов;

- все использованные материалы и другие отходы должны подвергаться обеззараживанию и последующей утилизации в соответствии с действующими санитарными требованиями;

- поверхности столов, а также помещения, в которых проводится выделение НК, постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 минут с применением бактерицидных УФ-излучателей. По окончании работы поверхности лабораторных столов должны подвергаться обработке регламентированными дезинфицирующими средствами.

- применять МИ строго по назначению;

- к работе с Набором реагентов допускается только персонал, обученный методам лабораторной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории;

– не использовать Набор реагентов, если нарушена внешняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию;

– не использовать Набор реагентов, если не соблюдались условия его транспортирования и хранения согласно инструкции;

– не использовать Набор реагентов по истечении срока годности.

– соблюдать инструкции по эксплуатации производителя используемого оборудования.

#### **4. Требуемое дополнительное оборудование и материалы**

– бокс микробиологической безопасности БМБ-II (тип А), «БМБ-II-Ламинар-С-1,5» (ЗАО «Ламинарные системы», Россия);

– холодильник, поддерживающий температуру от 2 °С до 8 °С с морозильной камерой от минус 18 °С до минус 25 °С («Liebherr», Германия);

– мини-центрифуга/вортекс, до 3500 об/мин «Microspin FV-2400», («SIA Biosan», Латвия);

– мини-центрифуга, от 1000 до 14500 об/мин «Microspin 12», («SIA BioSan», Латвия);

– панчер DBS «1296-071 Delfia», («PerkinElmer», Финляндия), либо пробойник 3,0 мм «Uni-Core Punch» («Whatman», Великобритания);

– вакуумный отсасыватель медицинский с колбой ловушкой «ОМ-01», («Утес», Россия);

– термостат типа «Драй-блок», поддерживающий температуру от 25 до 120 °С («TDB-120», «SIA Biosan», Латвия);

– дозаторы механические переменного объема от 1 до 10 мкл, от 2 до 20 мкл; от 20 до 200 мкл; от 100 до 1000 мкл («Биохит», Россия);

– штативы для микропробирок объемом 1,5/2,0 мл («ИнтерЛабСервис», Россия);

– штативы для наконечников к дозаторам переменного объема («SSI», США);

– наконечники к дозаторам переменного объема с аэрозольным барьером, сертифицированные на отсутствие нуклеаз («SSI», США);

– наконечники к дозаторам переменного объема 20-200 мкл и 100–1000 мкл без аэрозольного барьера, сертифицированные на отсутствие нуклеаз («SSI», США);

– микропробирки типа «Эппендорф», 1,5/2,0 мл, сертифицированные на отсутствие нуклеаз;

– емкость для сброса отходов;

– перманентный маркер черного цвета со стержнем 0,5 мм;

– деконтаминирующий готовый раствор «DNArid» («Биомедицинские инновации», Россия);

– дезинфицирующий раствор «МультиДез (концентрат)» («Софт-Протектор», Россия);

– отдельный халат, шапочка, очки, сменная обувь и одноразовые медицинские перчатки неопудренные.

Допускается применение других материалов и оборудования, эквивалентных по техническим характеристикам и квалификации.

## **5. Анализируемые пробы и пробоподготовка**

Биоматериалом для выделения ДНК являются образцы цельной крови (с ЭДТА) и сухие пятна крови на ДНК-картах (картах Гатри).

### **5.1 Сухие пятна крови на ДНК-картах (картах Гатри)**

Для получения сухих пятен крови применяются носители на основе фильтровальной бумаги или целлюлозы, содержащие дополнительные компоненты.

Для получения сухого пятна крови участок ДНК-карта (карты Гатри) пропитывают капиллярной кровью, взятой из пятки новорождённого или пальца пациента старшего возраста. Также допускается нанесение от 100 до 200 мкл цельной венозной крови, содержащей антикоагулянт этилендиаминтетрауксусной кислоты дикалиевая или трикалиевая соль (ЭДТА) в конечной концентрации до 2,0 г/л. Образовавшееся пятно должно быть диаметром не менее 1,5 см. Для увеличения достоверности исследования получают 2-3 пятна крови. Образец высушивают на воздухе в горизонтальном положении на чистой обезжиренной поверхности не менее 2 ч без применения дополнительной тепловой обработки и попадания прямых солнечных лучей. Недопустимо прикасаться к пятну во избежание контаминации и получения неверных результатов. После высыхания карты герметично упаковывают в индивидуальный чистый конверт, маркируют, упаковывают и плотно закрывают. Во избежание контаминации недопустимо класть карты друг на друга. Сопроводительную документацию, оформленную на каждую пробу, прикладывают отдельно от исследуемого материала. Доставку сухих пятен крови на ДНК-картах (картах Гатри) для проведения исследований в лабораторию, проводящую обследование, осуществляют в герметичной упаковке с соблюдением температурного режима (от 2 °С до 25 °С). Сухие пятна крови на ДНК-картах (картах Гатри) хранят при температуре от 2 °С до 25 °С, избегая попадания влаги. После транспортировки и хранения не вскрывают герметичную упаковку до момента достижения комнатной температуры

(от 18 °С до 25 °С). Срок хранения карты с нанесённым биоматериалом в герметичной упаковке составляет от нескольких месяцев до нескольких лет.

## **5.2 Цельная кровь**

Отбор образцов крови осуществляется из локтевой вены одноразовой иглой в вакуумные одноразовые пробирки, содержащие антикоагулянт этилендиаминтетрауксусной кислоты дикалиевая или трикалиевая соль (ЭДТА). Пробирку с закрытой крышкой аккуратно переворачивают не менее 8-10 раз вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянт. Нельзя встряхивать пробирку, так как это может вызвать пенообразование и гемолиз. Не допускать образования сгустка крови, выделение ДНК станет невозможным. Запрещено использовать гепарин в качестве антикоагулянта.

Пробирки с образцами крови маркируют, упаковывают и плотно закрывают. Сопроводительную документацию, оформленную на каждую пробу, прикладывают отдельно от исследуемого материала. Образцы цельной крови могут храниться в течение 6 ч при температуре от 2 °С до 8 °С и в течение 2 ч при температуре от 20 °С до 25 °С. Образцы цельной крови могут транспортироваться в течение 6 ч при температуре от 2 °С до 8 °С и в течение 2 ч при температуре от 20 °С до 25 °С. Открывать пробирки с образцами цельной крови до момента доставки их на исследование в клинико-диагностическую лабораторию недопустимо.

Все работы с потенциально инфицированным материалом, транспортирование и подготовка материала для исследований, проводятся в соответствии с действующими нормативными и методическими документами, регламентирующими деятельность с возбудителями инфекционных заболеваний.

## **6. Процедура выделения ДНК**

### **6.1 Условия проведения процедуры исследования**

Все работы проводят при температуре в помещении 20–28 °С и относительной влажности воздуха 15–75 %. Соблюдать меры предосторожности согласно п. 3.

### **6.2 Меры предотвращения контаминации (загрязнения ДНК)**

Этапы работы необходимо проводить в отдельных помещениях в условиях изолированных зон, снабженных необходимыми расходными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между зонами. В работе с набором реагентов задействованы следующие зоны:

– Зона № 1 для приема, регистрации и первичной обработки биологического материала (подготовка исследуемых образцов);

- Зона № 2 для выделения НК;
- Зона № 3 для проведения ПЦР и учета результатов.

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится пробоподготовка и ПЦР, следует обрабатывать бактерицидными облучателями до и после проведения работ не менее 30 мин.

При работе необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, сертифицированные производителем на отсутствие нуклеаз (ДНКаз, РНКаз), пирогенов, ДНК человека, ингибиторов ПЦР.

Отбор супернатанта вакуумным медицинским отсасывателем осуществляется только с использованием наконечников без фильтра. Во всех остальных случаях необходимо использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов. Не допускается повторное использование наконечников.

Удалять надсадочную жидкость из каждой пробирки следует отдельным наконечником.

Для выделения ДНК следует иметь два набора дозаторов: для работы с клиническими образцами и для внесения растворов.

При добавлении реагентов Набора реагентов в пробу, содержащую биологический материал, следует аккуратно вносить раствор, не касаясь стенок пробирок. При касании стенки пробирки сменить наконечник.

Для предотвращения контаминации открывать крышку только той пробирки, с которой проводятся манипуляции, и закрывать ее перед работой со следующей пробиркой.

При прогревании и перемешивании содержимого пробирок возможно непроизвольное открытие крышек. Рекомендуется придерживать крышки пробирок при перемешивании, использовать пробирки с защелкивающимися крышками, а также программируемые термостаты с прижимной крышкой.

Необходимо придерживать крышки во время перемешивания на микро-центрифуге-вортексе во избежание их непроизвольного открытия. Во время работы запрещается касаться движущихся частей мини-центрифуги-вортекса.

Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией.

Перед выбиванием каждого нового образца сухого пятна рекомендуется сделать 2-3 высечки на чистом участке фильтровальной бумаги, что позволит снизить риск контаминации нового образца.

### **6.3 Требования к персоналу**

Набор реагентов предназначен для профессионального применения и должен использоваться специалистами, имеющими достаточную квалификацию. К работе с материалом, потенциально инфицированным патогенными биологическими агентами (ПБА), следует допускать только профессиональных сотрудников, имеющих разрешение на работу с ПБА соответствующих групп и прошедших обучение на курсах профессиональной подготовки с освоением методов безопасной работы с ПБА.

#### **6.4 Процедура выделения ДНК из исследуемого материала**

##### **6.4.1 Процедура выделения ДНК из цельной крови**

Выделение ДНК из исследуемого материала проводят в зоне № 2.

Извлечь Набор реагентов из холодильника, поместить в бокс микробиологической безопасности и выдержать при комнатной температуре не менее 5 минут. Прогреть реагент Лизирующий буферный раствор в термостате при 75 °С до полного растворения кристаллов в течение минимум 5 минут.

Промаркировать необходимое количество микропробирок объемом 1,5/2,0 мл в соответствии с количеством исследуемых проб и одной микропробирки для отрицательного контрольного образца этапа выделения (ОКО). Дополнительно промаркировать микропробирку для положительного контрольного образца этапа выделения (ПКО), если он предусмотрен для анализа производителем используемого ПЦР-набора.

В каждую промаркированную пробирку внести по 500 мкл реагента Лизирующий буферный раствор.

В пробирку, промаркированную «ОКО», внести 25 мкл реагента Буферный раствор для растворения ДНК (или требуемое количество ОКО, предусмотренное производителем используемого ПЦР-набора), после чего закрыть крышку данной пробирки.

Внести в каждую промаркированную пробирку требуемое количество ВКО, если он предусмотрен для анализа производителем используемого ПЦР-набора.

Внести по 25 мкл цельной крови в соответствующие промаркированные пробирки, после чего закрыть крышки данных пробирок.

В пробирку, промаркированную «ПКО», внести требуемое количество ПКО, если он предусмотрен для анализа производителем используемого ПЦР-набора.

На мини-центрифуге/вортексе перемешать содержимое пробирок в течение 5 – 10 с. Центрифугировать в течение 5 с при 2800 об/мин для осаждения капель в пробирке.

Инкубировать с закрытыми крышками при 75 °С 15 минут в термостате, каждые 2 – 3 минуты перемешивая содержимое пробирок в течение 5 – 10 с на мини-центрифуге/вортексе.

Центрифугировать в течение 5 с при 2800 об/мин для осаждения капель в пробирке.

Внести в каждую пробирку по 550 мкл реагента Осадитель ДНК, тщательно перемешать на мини-центрифуге/вортексе в течение 10 – 15 с.

Центрифугировать в течение 5 минут при 13000 об/мин.

Супернатант аккуратно отобрать вакуумным медицинским отсасывателем, не касаясь наконечником дна пробирки.

Добавить в каждую пробирку по 1,0 мл реагента Раствор для отмывки, перемешать на мини-центрифуге/вортексе в течение 5 – 10 с.

Центрифугировать в течение 3 минут при 13000 об/мин. Визуально проконтролировать наличие осадка.

Супернатант аккуратно отобрать вакуумным медицинским отсасывателем, не захватывая осадок.

Инкубировать пробирки с осадком с открытыми крышками в термостате при 75 °С в течение 5 минут для подсушивания осадка. Недопустимо термостатирование менее 5 минут, в таком случае в образце в дальнейшем могут присутствовать примеси ингибиторов ферментативных реакций. Недопустимо термостатирование в течение более 10 минут, в таком случае могут возникнуть проблемы с растворением ДНК. Визуально проконтролировать осадок: он должен быть сухим и иметь белый цвет.

Добавить к осадку 50 мкл реагента Буферный раствор для растворения ДНК, закрыть крышки пробирок и перемешать на мини-центрифуге/вортексе в течение 10 – 15 с.

Инкубировать пробирки в термостате при температуре 75 °С в течение 5 минут, перемешивая содержимое пробирок на мини-центрифуге/вортексе каждые 2 минуты по 10 – 15 с до полного растворения осадка.

Центрифугировать в течение 1 минуты при 13000 об/мин.

Передать выделенные препараты ДНК в зону № 3 для дальнейшей постановки ПЦР. Выделенные препараты ДНК могут храниться до 24 ч при температуре от 2 °С до 8 °С, до года при температуре не выше минус 16 °С. Недопустимы повторные циклы замораживания-оттаивания.

#### **6.4.1 Процедура выделения ДНК из сухих пятен крови**

Выделение ДНК из исследуемого материала проводят в зоне № 2.

Промаркировать необходимое количество микропробирок объемом 1,5/2,0 мл в соответствии с количеством исследуемых проб и одной микропробирки для отрицательного контрольного образца (ОКО). В качестве ОКО используется пустая пробирка, не содержащая выбитые диски сухого пятна крови. Дополнительно промаркировать микропробирку для положительного контрольного образца (ПКО), если он предусмотрен для анализа производителем используемого ПЦР-набора.

В каждую промаркированную пробирку внести по 500 мкл реагента Лизирующий буферный раствор.

Последовательно выбить из каждого сухого пятна согласно Схеме 1, и поместить диски в соответствующую промаркированную пробирку. Рекомендуется выбивать по три бумажных диска каждого образца при помощи панчера (пробойника) диаметр (3,0 – 3,2) мм. Закрывать крышку пробирки. Выбивать диски центральной части пятна, не захватывая область ограничивающей краски. Выбитые диски должны быть полностью пропитаны кровью.

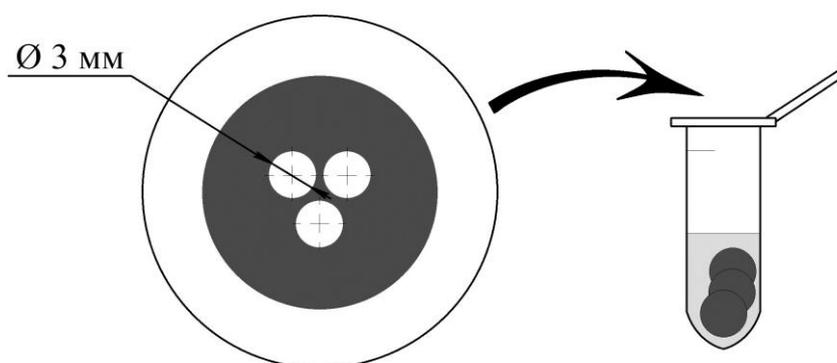


Рисунок 1 – Рекомендуемое выбивание дисков из сухого пятна крови

Перед выбиванием каждого нового образца сухого пятна сделать 2-3 высечки на чистом участке фильтровальной бумаги.

После окончания выбивания дисков необходимо провести обработку лезвия панчера (пробойника) согласно инструкции производителя (например, водой для лабораторного анализа, после чего 96 % этанолом).

Внести в каждую промаркированную пробирку требуемое количество ВКО, если он предусмотрен для анализа производителем используемого ПЦР-набора.

В пробирку, промаркированную «ПКО», внести требуемое количество ПКО, если он предусмотрен для анализа производителем используемого ПЦР-набора.

На мини-центрифуге/вортексе перемешать содержимое пробирок в течение 5 – 10 с. Центрифугировать в течение 5 с при 2800 об/мин для осаждения капель в пробирке. Бумажные диски должны оставаться в жидкости и не слипаться.

Инкубировать с закрытыми крышками при 75 °С 15 минут в термостате, каждые 2 – 3 минуты перемешивая содержимое пробирок в течение 5 – 10 с на мини-центрифуге/вортексе.

Центрифугировать в течение 5 минут при 13000 об/мин.

Промаркировать необходимое количество микропробирок объемом 1,5/2,0 мл в соответствии с количеством исследуемых проб и одной микропробирки для отрицательного контрольного образца (ОКО). Дополнительно промаркировать микропробирку для положительного контрольного образца (ПКО), если он предусмотрен для анализа производителем используемого ПЦР-набора.

Не затрагивая диски, перенести 400 мкл супернатанта в соответствующие чистые промаркированные микропробирки 1,5/2 мл. Диски должны остаться в исходных пробирках. Пробирки с дисками поместить в емкость с отходами.

Внести в каждую пробирку с отобранным супернатантом по 550 мкл реагента Осадитель ДНК. На мини-центрифуге/вортексе перемешать содержимое пробирок в течение 5 – 10 с.

Центрифугировать в течение 5 минут при 13000 об/мин.

Супернатант аккуратно отобрать вакуумным медицинским отсасывателем, не касаясь наконечником дна пробирки.

Добавить в каждую пробирку по 1,0 мл реагента Раствор для отмывки, перемешать на мини-центрифуге/вортексе в течение 5 – 10 с.

Центрифугировать в течение 3 минут при 13000 об/мин. Визуально проконтролировать наличие осадка.

Супернатант аккуратно отобрать вакуумным медицинским отсасывателем, не захватывая осадок.

Инкубировать пробирки с осадком с открытыми крышками в термостате при 75 °С в течение 5 минут для подсушивания осадка. Недопустимо термостатирование менее 5 минут, в таком случае в образце в дальнейшем могут присутствовать примеси ингибиторов ферментативных реакций. Недопустимо термостатирование в течение более 10 минут, в таком случае могут возникнуть проблемы с растворением ДНК. Визуально проконтролировать осадок: он должен быть сухим и иметь белый цвет.

Добавить к осадку 50 мкл реагента Буферный раствор для растворения ДНК, закрыть крышки пробирок и перемешать на мини-центрифуге/вортексе в течение 10 – 15 с.

Инкубировать пробирки в термостате при температуре 75 °С в течение 5 минут, перемешивая содержимое пробирок на мини-центрифуге/вортексе каждые 2 минуты по 10 – 15 с до полного растворения осадка.

Центрифугировать в течение 1 минуты при 13000 об/мин.

Передать выделенные препараты ДНК в зону № 3 для дальнейшей постановки ПЦР. Выделенные препараты ДНК могут храниться до 24 ч при температуре от 2 °С до 8 °С, до года при температуре не выше минус 16 °С. Недопустимы повторные циклы замораживания-оттаивания.

## **7. Условия транспортирования МИ**

Набор реагентов транспортируют всеми видами крытого транспорта в соответствии с требованиями и правилами, установленными на данном виде транспорта при температуре от 2 °С до 25 °С в течение 5 суток. Замораживание набора при транспортировке не допускается.

Набор реагентов, транспортировавшийся с нарушением температурного и временного режимов и нарушением целостности упаковки предприятия-изготовителя, использованию не подлежит.

## **8. Хранение**

Компоненты Набора реагентов до вскрытия и после вскрытия должны храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 °С до 8 °С. Холодильные камеры должны обеспечивать регламентированный температурный режим. Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением температурного режима, использованию не подлежат.

## **9. Указания по безопасной утилизации**

Отходы, образующиеся в результате применения набора реагентов пользователями по назначению, установленному производителем, а также не использованные изделия (с истекшим сроком годности, поврежденной упаковкой) относятся к медицинским отходам, содержащим токсичные вещества. Медицинские отходы подлежат сбору, обезвреживанию, размещению, хранению, транспортировке, учету и утилизации в соответствии с действующими санитарными правилами и нормами.

## **10. Гарантии производителя**

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик Набора реагентов требованиям, указанным в настоящих технических

условиях и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Гарантийный срок годности МИ – 12 месяцев со дня приёмки службой качества предприятия-изготовителя.

## 11. Ремонт и техническое обслуживание

Набор реагентов предназначен для дробного однократного использования. Не подлежит ремонту и техническому обслуживанию.

## 12. Объяснение используемых символов

Таблица 3 – Объяснение символов, которые могут использоваться в маркировке

Символ	Название символа	Значение символа
	Беречь от влаги	Указывает на необходимость защиты груза от воздействия влаги
	Верх	Указывает правильное вертикальное положение груза
	Дата изготовления	Рядом с символом указана дата изготовления медицинского изделия
	Изготовитель	Рядом с символом указаны наименование и адрес изготовителя медицинского изделия
	Использовать до, срок годности	Рядом с символом указана дата, после которой медицинское изделие не должно применяться
	Код партии	Рядом с символом указан код партии медицинского изделия, установленный производителем
	Медицинское изделие для диагностики in vitro	Указывает, что медицинское изделие является изделием для диагностики in vitro
	Не допускать воздействия солнечного света	Указывает, что медицинское изделие необходимо защищать от воздействия солнечного света и держать вдали от источников тепла
	Обратитесь к инструкции по применению	Указывает на необходимость для пользователя ознакомиться с инструкцией по применению
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению	Указывает на необходимость для пользователя ознакомиться с важной информацией инструкции по применению, такой как предупреждения и меры предосторожности, которые не могут, по разным причинам, размещены на медицинском изделии
	Предел температуры	Рядом с верхними и нижними горизонтальными линиями указаны границы температурного диапазона, в пределах которого медицинское изделие может надежно сохраняться

Символ	Название символа	Значение символа
	Содержимого достаточно для проведения n тестов	Рядом с символом указано количество тестов, которые могут быть выполнены с использованием медицинского изделия
	Специальный знак обращения медицинских изделий на рынке Евразийского экономического союза	Знак обращения свидетельствует о том, что медицинское изделие, маркированное им, прошло установленную в рамках Союза процедуру регистрации и подтверждения соответствия общим требованиям безопасности и эффективности медицинских изделий и требованиям к внедрению и поддержанию системы менеджмента качества медицинских изделий
	Хрупкое. Осторожно	Указывает на необходимость осторожного обращения с грузом

### 13. Контактная информация для обращений

По вопросам, касающимся качества Набор реагентов для выделения ДНК из биологического материала (ЭКСТРА-преп PS), следует обращаться к предприятию-изготовителю ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера по адресу: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, телефон (812) 233 20 92, факс (812) 644 63 10, электронный адрес: [pasteur@pasteurorg.ru](mailto:pasteur@pasteurorg.ru), интернет-сайт <https://www.pasteurorg.ru>.

### 14. Информация о пересмотре настоящей Инструкции

Настоящая инструкция составлена впервые. Дата утверждения указана на титульном листе настоящей инструкции. Пересмотр инструкции проводится на производстве ежегодно при отсутствии изменений, а также дополнительно по мере необходимости внесения изменений (согласно ГОСТ ISO 13485-2017). В случае внесения изменений в эксплуатационную документацию инициируется соответствующая процедура информирования об этом уполномоченного государственного органа и после этого об изменениях информируются пользователи. В случае отсутствия изменений действие данной версии документа продлевается автоматически без уведомлений об этом пользователей и уполномоченных органов.