



IVD

Набор реагентов для экстракции ДНК грибов из биологического материала
«МагноПрайм® ФАСТ-М» по ТУ 21.20.23-214-09286667-2023

МагноПрайм® ФАСТ-М

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



Биотехнологическая
компания

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	3
1. НАЗНАЧЕНИЕ.....	4
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	4
2.1. Состав и комплектность	4
2.2. Принцип метода	5
2.3. Техническое обслуживание и ремонт	5
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.....	5
3.1. Отрицательный и положительный контроли экстракции ДНК	5
3.2. Контроль ингибирования.....	5
3.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации.....	6
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА	6
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ.....	6
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	9
6.1. Взятие исследуемого материала.....	9
6.2. Предварительная обработка исследуемого материала	9
6.3. Автоматическая методика экстракции ДНК	9
6.4. Ручная методика экстракции ДНК.....	10
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	11
7.1. Образцы кожи	11
7.2. Образцы волос	11
7.3. Образцы ногтей.....	11
8. ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.....	12
8.1. Предварительная подготовка исследуемого материала.....	12
8.2. Автоматическая методика экстракции	12
8.3. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива	13
8.4. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования.....	14
8.5. Хранение очищенной ДНК.....	15
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	16
9.1. Чистота экстрагированной ДНК.....	16
9.2. Влияние интерферирующих веществ и ДНК человека.....	16
10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА	16
10.1. Срок годности.....	16
10.2. Транспортирование	16
10.3. Хранение.....	17
11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	17
12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	18

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВКО	–	внутренний контрольный образец
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	–	дезоксирибонуклеаза
НК	–	нуклеиновые кислоты
ОК	–	отрицательный контроль
ОКО	–	отрицательный контрольный образец экстракции
ПК	–	положительный контроль
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
РУ	–	регистрационное удостоверение
ТУ	–	технические условия

НАИМЕНОВАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов для экстракции ДНК грибов из биологического материала «МагноПрайм® ФАСТ-М» по ТУ 21.20.23-214-09286667-2023.

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «МагноПрайм® ФАСТ-М», а также сокращение Набор реагентов.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «МагноПрайм® ФАСТ-М» предназначен для проведения этапа экстракции ДНК грибов из биологического материала (кожа и ее придатки (волосы и ногти)) для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Набор может использоваться для ручной экстракции с использованием магнитного штатива или центрифугирования, а также совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что запрограммирована последовательность действий, изложенная в инструкции по применению набора.

1.2. Материалом для проведения экстракции служат пробы биологического материала, указанного в разделе инструкции «Исследуемый материал».

1.3. Функциональное назначение: Набор реагентов предназначен для использования в качестве вспомогательного средства для диагностики *in vitro* (выделение нуклеиновых кислот из биологического материала для дальнейшего исследования методом ПЦР).

1.4. Показания к проведению исследования: Набор реагентов используется в комплексном анализе в клинической лабораторной диагностике для исследования биологического материала, полученного от лиц с подозрением на инфекционные дерматозы, и для мониторинга терапии. Результаты ПЦР-исследования учитываются в комплексной диагностике заболевания.

1.5. Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Состав и комплектность

Набор выпускается в единой форме. Состав набора и комплектность поставки указаны в таблицах 1 и 2 соответственно. Набор предназначен для проведения этапа экстракции ДНК грибов из биологического материала (кожа и ее придатки (волосы и ногти)) для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Набор предназначен для выделения ДНК из 100 мкл биологического материала и рассчитан на проведение экстракции ДНК из 96 образцов, включая контроли. Форма может быть использована как для ручной экстракции, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции НК.

Таблица 1

Состав набора

Компонент	Объем, мл	Количество	Описание
Буфер L ¹  Опасно	24,0	1 флакон	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость ² .
Буфер M	27,0	1 флакон	Раствор для предобработки. Прозрачная жидкость.
Буфер E	77,0	1 флакон	Раствор для отмывки и элюции. Прозрачная жидкость.
ВКО-FL	1,10	1 пробирка	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
МГС	1,10	1 пробирка	Магнетизированная силика. Суспензия.
ОКО	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.

¹ Буфер L содержит опасные вещества: гуанидин тиоцианат, гуанидин гидрохлорид, изопропанол, 1-тиоглицерол, тритон X-100. Меры предосторожности при работе с реагентами см. в разделе инструкции «Меры предосторожности и предупреждения».

² При хранении Буфера L возможно образование осадка в виде кристаллов.

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов	–	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде ³ на официальном сайте Производителя по адресу: www.nextbio.ru	-
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: www.nextbio.ru	-

2.2. Принцип метода

Исследуемый образец предварительно обрабатывается Буфером М для разрушения клеточной стенки гриба, затем в объеме 100 мкл обрабатывается лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики – магнитного сорбента. В результате происходит деструкция клеточных стенок 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. Техническое обслуживание и ремонт

Набор не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

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 экстракции;
- 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 экзогенный⁴ и эндогенный⁵ ВКО. Экзогенный ВКО необходимо добавить в каждый

³ Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

⁴ ВКО-FL из набора «МагноПрайм® ФАСТ-М» или ВКО, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации.

⁵ В качестве эндогенного ВКО используются мишени, предусмотренные набором реагентов для проведения амплификации.

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 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. Также для предотвращения контаминации лаборатории или в качестве мер по деконтаминации рабочих зон рекомендуется использовать раствор для дезактивации нуклеиновых кислот, например, «Олигатор» производства ООО «НекстБио», Россия.

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

4.1. Набор «МагноПрайм® ФАСТ-М» применяется только для диагностики *in vitro*.

4.2. Набор предназначен для экстракции ДНК биологических агентов 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 клинично-диагностической лаборатории.

4.5. Набор может применяться совместно с ПЦР-наборами для выявления ДНК биологических агентов, зарегистрированными в установленном порядке на территории Российской Федерации.

4.6. Применять набор реагентов строго по назначению согласно инструкции по применению.

4.7. Не применять набор при нарушении целостности упаковки и с истекшим сроком годности.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», 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» 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. Исследования по детекции нуклеиновых кислот должны проводиться в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

5.3. 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 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 СанПиН 3.3686-21.

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку⁶, биологический материал⁷, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром⁸. 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 клинично-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21).

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

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.

- 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.

- Входящий в состав набора Буфер L содержит следующие опасные вещества: гуанидин тиоцианат, гуанидин гидрохлорид, изопропанол, тритон X-100, 1-тиоглицерол. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данным реагентом, описаны в таблице 3. Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности представлена в таблице 4.

Таблица 3

Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с Буфером L

Реагент	Опасные вещества	Заявления об опасности	Меры предосторожности
Буфер L	изопропанол, гуанидин гидрохлорид, 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

Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. H302: Вредно при проглатывании. H311: Токсично при контакте с кожей. H312: Вредно при контакте с кожей. H315: Вызывает раздражение кожи. H319: Вызывает серьезное раздражение глаз. H332: Вредно при вдыхании.	H336: Может вызывать вялость или сонливость. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
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. 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. При наличии контактных линз снять их и продолжить промывание водой. 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. P501: Утилизировать содержимое в соответствии с национальными правилами СанПин 2.1.3684-21.

- Остальные реагенты, входящие в состав набора, 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.

- Лист безопасности реагента Буфер L доступен по запросу.

- 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.

5.4. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие исследуемого материала

6.1.1. Одноразовые или стерильные многоразовые пинцеты и ножницы для взятия биологического материала (образцы кожи и ее придатков (волос и ногтей)). Пинцетом изымают на исследование волосы, помимо чешуек кожи головы, если поражена волосистая часть головы.

6.1.2. Стерильный одноразовый скальпель или лезвие для образцов кожи и ее придатков (волос и ногтей). При поражении кожи делают соскоб с границы очага.

6.1.3. Завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки типа «Эппендорф» для хранения и транспортировки биологических образцов, стерильные.

6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала

6.2.1. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.2.2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева не менее чем до 95 °С.

6.2.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100, до 200 и до 1000 мкл.

6.2.4. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.

6.2.5. Вортекс.

6.2.6. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.2.7. Холодильник, поддерживающий температурный режим от 2 °С до 8 °С.

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

6.2.9. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

6.3. Автоматическая методика экстракции ДНК

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, зарегистрированная в РФ и удовлетворяющая следующим требованиям:

- возможность реализации последовательности этапов экстракции, описанной в разделе «Экстракция ДНК из исследуемого материала» (п. 8.2.2.);
- наличие системы дозирования жидкостей в диапазоне 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.

В ходе проведения испытаний валидацию прошли следующие автоматические станции для экстракции нуклеиновых кислот: Microlab STARlet (ПУ № РЗН 2018/6981), KingFisher Flex (ПУ № ФСЗ 2009/05562), Auto-Pure 96 (ПУ № РЗН 2022/16430), Nexor 96 (ПУ № РЗН 2022/18023).

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

6.3.5. Холодильник, поддерживающий температурный режим от 2 °С 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. Ручная методика экстракции ДНК

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 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. 8.3.2.).

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. 8.4.2.).

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, поддерживающий температурный режим от 2 °С 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 служат образцы кожи и ее придатков (волос и ногтей).

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 по возможности рекомендуется брать из нескольких очагов, где имеются признаки воспаления или находятся клетки-мишени для инфекционных агентов. Решение о выборе места взятия исследуемого материала принимает лечащий врач в зависимости от диагностической задачи.

ВНИМАНИЕ! Забор материала не может быть осуществлен в условиях, указанных ниже:

- использовались антимикотические препараты топического применения в течение 48 часов;
- кожа была обработана кремом в течение 24 часов;
- использовалась декоративная косметика в течение 24 часов;
- использовались моющие средства с высоким содержанием щёлочи в течение 24 часов.

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. Образцы кожи

С соблюдением правил асептики материал (мелкие кожные чешуйки и покрышки везикул) собирают стерильным пинцетом или соскабливают скальпелем на границе здоровой и пораженной кожи, так как микроорганизмы выявляются главным образом в периферической части очагов поражения, реже в центре. Образцы кожи помещают в стерильные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.

Биологический материал, помещенный в стерильные пробирки, хранить и транспортировать согласно следующим требованиям:

- при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) до месяца;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С для длительного хранения.

7.2. Образцы волос

При поражении волосистой части головы, с помощью стерильного пинцета, фрагменты волос и волосяных фолликулов берут из середины очага поражения, выбирая наиболее поврежденные или обесцвеченные. Если дополнительно обнаруживаются участки поражения на голове, то материал собирают с помощью стерильного скальпеля по правилам сбора образцов с гладкой кожи. Образцы волос помещают в стерильные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.

Биологический материал, помещенный в стерильные пробирки, хранить и транспортировать согласно следующим требованиям:

- при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) до месяца;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С для длительного хранения.

7.3. Образцы ногтей

При дистальном поражении ногтевой пластины материал (подногтевой дебрис) получают выскабливанием одноразовым лезвием или скальпелем из-под ногтевого ложа. Дополнительно к подногтевому дебрису в ту же пробирку забирают срез ногтя. При проксимальном поражении ногтя материал получают соскабливающими движениями с поверхности пораженной части ногтевой пластины. Образцы ногтей помещают в стерильные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.

Биологический материал, помещенный в стерильные пробирки, хранить и транспортировать согласно следующим требованиям:

- при комнатной температуре (от 18 до 25 °С) до месяца;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С для длительного хранения.

8. ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Экстракция ДНК должна проводиться при нормальных показателях микроклимата клинично-диагностической лаборатории⁹:

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

8.1. Предварительная подготовка исследуемого материала

ВНИМАНИЕ! Перед экстракцией необходимо провести предобработку биоматериала.

8.1.1. В каждую пробирку с исследуемыми образцами добавить по **250 мкл Буфера М**. Перемешать и осадить капли на вортексе.

8.1.2. Инкубировать пробирки в течение **10 минут** при температуре **95 °С**.

8.1.3. После инкубации тщательно перемешать пробирки и осадить капли на вортексе.

8.1.4. Далее провести экстракцию в соответствии с п. 8.2, 8.3 или 8.4.

Примечание: для последующего использования остатки образцов, предобработанных Буфером М, допустимо хранить при следующих условиях:

- при температуре от 2 до 8 °С до месяца;
- при температуре от минус 18 °С до минус 20 °С до года.

8.2. 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. 8.2.2.

8.2.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

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

8.2.1.2. Перемешать взбалтыванием Буфер L и Буфер E.

8.2.1.3. Перемешать содержимое пробирки с ВКО-FL и осадить капли на вортексе.

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 °С до 25 °С.

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».

8.2.2. Процедура экстракции ДНК

8.2.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных образцов отдельно 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**.

8.2.2.2. Внести в пробирки исследуемые и контрольные (ОКО) образцы в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.3. Прогреть пробирки при температуре **60 °С** в течение **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.4. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.2.2.5. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

8.2.2.6. Добавить в пробирки по **500 мкл Буфера E** и, не перемешивая, удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера E содержимое пробирок не перемешивать.

8.2.2.7. Добавить в пробирки **150 мкл Буфера E**, перемешать.

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

8.2.2.9. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.2.2.10. Вынуть магнитный стержень с силикой из пробирок или при использовании магнитного штатива перенести надосадочную жидкость в новую пробирку или плашку.

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

8.3. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива

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

8.3.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.3.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный (ОКО) контроль). Промаркировать.

8.3.1.2. Перемешать взбалтыванием Буфер L и Буфер E.

8.3.1.3. Перемешать содержимое пробирки с 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. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

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 °С до 25 °С.

8.3.2. Процедура экстракции ДНК

8.3.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

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

или

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

8.3.2.2. Внести в пробирки исследуемые и контрольные (ОКО) образцы в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

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

8.3.2.5. Без снятия пробирок с магнитного штатива, 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. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в них по **500 мкл Буфера E**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера E содержимое пробирок не перемешивать.

8.3.2.7. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.5.

8.3.2.8. Добавить в пробирки **150 мкл Буфера E**, перемешать на вортексе.

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

8.3.2.10. Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

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

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

8.4. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования

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

8.4.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.4.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный (ОКО) контроль). Промаркировать.

8.4.1.2. Перемешать взбалтыванием Буфер L и Буфер E.

8.4.1.3. Перемешать содержимое пробирки с ВКО-FL и осадить капли на вортексе.

8.4.1.4. 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.

8.4.1.5. 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. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

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 °С до 25 °С.

8.4.2. Процедура экстракции ДНК

8.4.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

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

или

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

8.4.2.2. Внести в пробирки исследуемые и контрольные (ОКО) образцы в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.4.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

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

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

8.4.2.6. Добавить в пробирки по **500 мкл Буфера E**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера E содержимое пробирок не перемешивать.

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

8.4.2.8. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.4.2.5.

8.4.2.9. Добавить в пробирки **150 мкл Буфера E**, перемешать на вортексе.

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

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

8.4.2.12. 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.

8.5. Хранение очищенной ДНК

Очищенная ДНК может храниться при температуре от 2 °С до 8 °С в течение недели, при температуре от минус 24 °С 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. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

9.1. Чистота экстрагированной ДНК

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

9.2. Влияние интерферирующих веществ и ДНК человека

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом материале, на эффективность экстракции ДНК при использовании набора «МагноПрайм® ФАСТ-М» отсутствует. Это было показано при добавлении к образцам биологического материала интерферирующих веществ, представленных в таблице 5, в максимально возможной концентрации.

Таблица 5

Интерферирующие вещества, использованные при тестировании набора «МагноПрайм® ФАСТ-М»

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
Образцы кожи	Гемоглобин	200 мг/мл
	Кетоконазол	20 мкг/мл
	Тербинафин	20 мкг/мл
	Клотримазол	20 мкг/мл
Образцы ногтей	Аморолфин	20 мкг/мл
	Циклопирокс	20 мкг/мл
	Нафтифин	20 мкг/мл
Образцы волос	Кетоконазол	20 мкг/мл

Также при использовании набора «МагноПрайм® ФАСТ-М» не выявлено влияния ДНК человека на эффективность экстракции ДНК при добавлении к образцам кожи и ее производных (ногтей и волос) искусственно-синтезированной ДНК человека в максимально возможной концентрации ($1,0 \times 10^8$ копий/мл) для данных видов биоматериала.

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. 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.

10.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 25 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

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

10.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в течение всего срока годности набора. Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Смесь, приготовленную из Буфера L, ВКО-FL и МГС, хранить при температуре от 2 °С до 25 °С не более 2 месяцев.

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

11. 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® ФАСТ-М» 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.

12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Номер по каталогу



Изготовитель



Номер серии



Дата изготовления



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Использовать до



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Температурный диапазон



Обратитесь к инструкции по применению



Знаки опасности



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению