УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НПФ ДНК-Технология»

_____ С.П. Левичев

«26» ноября 2020 г.

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР
ООО «НПО ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ»
ДМИТРОВСКИЙ В.А.
ПОДПИСЬ

Научно-производственное объединение "ДНК-Технология"

ИНСТРУКЦИЯ

по применению комплекта реагентов для выделения ДНК

(ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА)

Комплектация «ПРОБА-ГС», «ПРОБА-ГС-ПЛЮС», «ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА»

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Комплект реагентов для выделения ДНК предназначен для получения препарата ДНК из биологического материала (таблица 1).

Комплектация ПРОБА-ГС-ПЛЮС предназначена для получения большего объёма ДНК (300 мкл) по сравнению с комплектацией ПРОБА-ГС (100 мкл) с целью проведения в дальнейшем большего числа ПЦР–исследований.

Комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА предназначена для получения ДНК с целью последующего проведения генетических исследований выделенной ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

1.2 Комплект может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

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

2 ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКТА

2.1. Состав комплекта

Реактив	Количество					
	ПРОБА-ГС		**ПРОБА-ГС-ПЛЮС**		**ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА**	
• Лизирующий раствор	15 мл	1 флакон	7,5 мл	1 флакон	7,2 мл	1 флакон
• Сорбент	1,0 мл	2 пробирки	1,0 мл	1 пробирка	960 мкл	1 пробирка
• Промывочный раствор №1	20 мл	1 флакон	10 мл	1 флакон	19,2 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №2	20 мл	1 флакон	10 мл	1 флакон	9,6 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №3	20 мл	1 флакон	10 мл	1 флакон	9,6 мл	1 флакон
• Элюирующий раствор	10 мл	1 флакон	15 мл	1 флакон	14,4 мл	1 флакон

2.2. Количество исследуемых образцов. Комплект предназначен для одноразового применения и рассчитан на выделение ДНК из 100/50/48 анализируемых образцов (включая отрицательные контрольные образцы) (таблица 1).

Таблица 1

Комплектация	**ПРОБА-ГС**	**ПРОБА-ГС-ПЛЮС**	**ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА**
Каталожный номер	**Р-003/1**	**Р-003/2**	**Р-023/4**
Материал для исследования	Мокрота, плазма крови, слюна, моча, сперма, секрет предстательной железы, ликвор, молочная сыворотка, измельченные ткани, соскобы эпителиальных клеток с задней стенки глотки, из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища, а также материал, в котором присутствует значительное количество ингибирующих примесей		Периферическая кровь
Количество определений	100	50	48

2.3. Время проведения выделения ДНК – один час.

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

3.1 Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности» и санитарно-эпидемиологическим правилам СП 1.3.2322-08

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

«Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные.

3.2. Утилизировать неиспользованные реактивы, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты и биологический материал необходимо в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Примечание – Комплект реагентов **не содержит** материалов биологического происхождения, веществ, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности являются безопасными.

4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с комплектом реагентов для выделения ДНК требуются следующие оборудование и материалы:

- бокс биологической безопасности II класса;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 65 °С до 98 °С;
- центрифуга с RCF не ниже 16 000 x g;
- микроцентрифуга-вортекс;
- холодильник бытовой с морозильной камерой;
- насос с колбой–ловушкой для удаления надосадочной жидкости;
- пробирки одноразовые пластиковые объёмом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;

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

- дозаторы электронные с адаптером и/или дозаторы механические переменного объёма однока-нальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 200 мкл, 1000 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- транспортная среда для биопроб и/или физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный.

При выделении НК[1] из плазмы:

- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА или цитратом натрия.

При выделении НК из мокроты (способ 1):

- 10% раствор трёхзамещенного фосфорнокислого натрия х 12H2O;
- 1М раствор HCl;
- 5% раствор хлорамина;
- вода дистиллированная.

При выделении НК из мокроты (способ 2): муколизин.

5 ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

5.1. Периферическая кровь

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 2,0 или 4,0 мл с добавленной в качестве

[1] НК – нуклеиновые кислоты.

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

антикоагулянта динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2–3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

5.2. Плазма крови

5.2.1. Центрифугируйте пробирки с кровью при 900 x g в течение 20 мин при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C).

5.2.2. После центрифугирования отберите полуавтоматическим дозатором верхнюю фракцию (плазма) и перенесите в отдельную пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

5.3. Мокрота

5.3.1. Способ 1

5.3.1.1. Примерно 500 мкл биологического материала перенесите в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.

5.3.1.2. Добавьте к пробе мокроты равный объём 10% трехзамещённого фосфорнокислого натрия x 12H2O, плотно закройте крышкой и интенсивно встряхните.

5.3.1.3. Смесь инкубируйте при температуре 37 °C в течение 18–24 часов, затем нейтрализуйте 1M HCl до pH 6,8–7,4.

5.3.1.4. Центрифугируйте при 100 x g в течение 20 мин.

5.3.1.5. Слейте надосадочную жидкость в ёмкость с 5% раствором хлорамина для обеззараживания.

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

5.3.1.6. Добавьте к осадку 500 мкл дистиллированной воды, перемешайте пипетированием и перенесите в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

5.3.1.7 Центрифугируйте пробирку при 16 000 x g в течение 10 мин.

5.3.1.8. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.3.2. Способ 2

5.3.2.1. В контейнер с образцом добавьте муколизин в соотношении 5:1 (пять частей муколизина к одной части мокроты), ориентируясь по градуировке контейнера.

5.3.2.2. Закройте крышку контейнера, встряхните содержимое и инкубируйте 20–30 мин при комнатной температуре, каждые 2–3 мин встряхивая контейнер.

5.4. Слюна, ликвор, синовиальная жидкость

5.4.1. Слюну, ликвор, синовиальную жидкость (примерно 500 мкл) соберите в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.

5.4.2. Перенесите 500 мкл материала в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

5.4.3. Центрифугируйте пробирку при 16 000 x g в течение 10 мин.

5.4.4. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.4.5. Добавьте к осадку 500 мкл физиологического раствора стерильного.

5.4.6. Центрифугируйте пробирку при 16 000 x g в течение 10 мин.

5.4.7. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

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

5.5. Моча

5.5.1. Порцию утренней мочи (примерно 50 мл) соберите в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.

5.5.2. Перенесите 1,0 мл материала в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл.

5.5.3. Центрифугируйте пробирку при 16 000 x g в течение 10 мин.

5.5.4. Наиболее полно удалите надосадочную жидкость.

5.5.5. Добавьте к осадку 1,0 мл физиологического раствора стерильного.

5.5.6. Центрифугируйте пробирку при 16 000 x g в течение 10 мин.

5.5.7. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.6. Сперма, секрет предстательный железы

5.6.1. Перенесите 20–30 мкл жидкого материала пипеткой в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл с консервантом (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного).

5.6.2. Центрифугируйте пробирку при 16 000 x g в течение 10 мин.

5.6.3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.7. Соскобы эпителиальных клеток

5.7.1. Перенесите соскоб эпителиальных клеток (с задней стенки глотки, из уретры, заднего свода влагалища, цервикального канала и др.) с помощью одноразового стерильного зонда в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл с транспортной средой (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного), аккуратно перемешайте. Извлеките зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к стенке

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

пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки. Пробирку плотно закройте.

5.7.2. Центрифугируйте пробирку при 16 000 x g в течение 10 мин.

5.7.3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).

Полученный материал готов для выделения ДНК.

6. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Примечание - В лизирующем растворе и в промывочном растворе №1 допускается выпадение осадка; перед началом работы его необходимо растворить нагреванием флакона при 50 °С в течение 15–20 мин.

6.1. Промаркируйте для каждого исследуемого образца и отрицательного контрольного образца (К-) по одной пробирке объёмом 1,5 мл.

Примечание - Для образцов, прошедших предобработку с получением осадка и надосадочной жидкости (см. 5: мокрота – способ 1, слюна, моча, ликвор, сперма, секрет предстательной железы, соскобы эпителиальных клеток), маркируются пробирки с подготовленным для исследования материалом в объёме 50 мкл.

6.2. Приготовьте смесь лизирующего раствора с сорбентом. Смешайте в отдельной пробирке:

- 150 x (N+1) мкл лизирующего раствора;
- 20 x (N+1) предварительно ресуспендированного сорбента,

где N + 1 – количество анализируемых образцов с учётом «К-» (N) с запасом на один образец.

6.3. Добавьте в каждую пробирку по 170 мкл полученной смеси.

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

6.4. Внесите по 50 мкл подготовленного биоматериала (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или по 100 мкл периферической крови (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) в пробирки для исследуемых образцов (за исключением пробирок с образцами, прошедшими предобработку с получением осадка (6.1), и пробирки «К-») (таблица 2).

Таблица 2

Комплектация	**ПРОБА-ГС**	**ПРОБА-ГС-ПЛЮС**	**ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА**
Необходимый объём исследуемого образца и	50 мкл		100 мкл
Время термостатирования образцов в лизирующем растворе	20 мин		10 мин
Количество промывочного раствора №1 для выделения одного образца	200 мкл		400 мкл
Количество элюирующего раствора для выделения одного образца	100 мкл	300 мкл	
Срок хранения полученной ДНК при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С	до 6 месяцев		до одного года

6.5. В пробирку, маркированную «К-», внесите 50 мкл (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или 100 мкл (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) транспортной среды или физиологического раствора стерильного (таблица 2). Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на вортексе в течение 3–5 с.

6.6. Термостатируйте пробирки в течение 20 мин (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или 10 мин (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) при 50 °С (таблица 2).

6.7. Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение одной минуты.

6.8. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

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

6.9. Добавьте к осадку 200 мкл (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или 400 мкл (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) промывочного раствора №1 и встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с (таблица 2).

6.10. Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение одной минуты.

6.11. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

6.12. Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №2 и встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с.

6.13. Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение одной минуты.

6.14. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

6.15. Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №3 и встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с.

6.16. Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение одной минуты.

6.17. Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

6.18. Откройте крышки пробирок и высушите осадок при 50 °С в течение 5 мин.

6.19. Добавьте к осадку 100 мкл (комплектация ПРОБА–ГС) или 300 мкл (комплектации ПРОБА–ГС–ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) элюирующего раствора и встряхните пробирки на вортексе в течение 5–10 с.

6.20. Прогрейте пробирки при 50 °С в течение 5 мин (таблица 2).

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

6.21. Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение одной минуты. Если образец предполагается хранить более 7 суток, перенесите надосадочную жидкость в новую пробирку.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР–амплификации. Полученный препарат ДНК можно хранить до 7 суток при температуре от 2 °С до 8 °С. Перед использованием препарата ДНК для постановки ПЦР необходимо повторить 6.21 — 6.22.

Более 7 суток препарат ДНК следует хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С.

Срок хранения - до 6 месяцев (комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС) или до одного года (комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) (таблица 2).

7 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

7.1 Транспортирование

Транспортирование комплекта осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 °С до 8 °С.

Комплекты реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

7.2 Хранение

Комплект реагентов для выделения ДНК следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности комплекта.

Примечание - При хранении допускается выпадение небольшого осадка в лизирующем растворе и в промывочном растворе №1.

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

Комплекты реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

7.3 Указания по эксплуатации

Комплект реагентов должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению. Для получения надёжных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению комплекта.

После вскрытия упаковки компоненты комплекта реагентов следует хранить при следующих условиях:

- компоненты комплекта реагентов следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности комплекта.
- лизирующий раствор и промывочный раствор №1 следует хранить в защищённом от света места в течение всего срока годности комплекта при температуре от 2 °С до 8 °С.

8 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

8.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие комплекта требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

8.2 Срок годности комплекта - 6 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

9 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

9.1 Комплекты, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, и неиспользованные реактивы относятся к классу Б и подлежат

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

утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.

9.2 Упаковка комплекта реагентов (первичная: пробирки, флаконы и внешняя: пакеты полиэтиленовые с замком и коробки картонные) после использования по назначению относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

10 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЛУЖИВАНИЕ

10.1 Комплект реагентов предназначен для одноразового использования и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

11 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для выделения ДНК (ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА) следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, корп.6, этаж 5, ком. 14, тел./факс +7 (495) 640-17-71.

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.

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:

http://www.dna-technology.ru/customer_support/

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

Адрес производителя:

ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, 142281, Московская обл., г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 20.

Место производства:

Код изготовителя указан на этикетке (см. последнюю цифру в серии набора):

1. ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, 142281, Московская обл., г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 20.

2. ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, 117246, Москва, Научный проезд, д. 20, стр 4.

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

Приложение А
(справочное)

Символы, используемые при маркировке комплекта

	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Температурный диапазон
	Количество тестов
	Годен до
	Серия набора
	Дата производства
	Обратитесь к инструкции по применению
	Каталожный номер
	Адрес производителя
	Не допускается воздействие солнечного света

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