Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НПФ ДНК-Технология»

_____ Д.Ю. Трофимов

«08» августа 2017 г.

СОГЛАСОВАНО

Директор ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, академик РАН, профессор

_____ Г.Т. Сухих

«08» августа 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов для выявления фрагмента Y хромосомы плода в крови матери методом ПЦР в режиме реального времени

Пол плода

Организация-производитель

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «ДНК-Технология ТС»

_____ С.П. Левичев

«08» августа 2017 г.

КОПИЯ ВЕРНА
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР
ООО «ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ ТС»
САМАРИН С.А.
ПОДПИСЬ

2017 г.

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

ВВЕДЕНИЕ

Выяснение пола плода в первом – начале второго триместра может предотвратить случаи рождения больных детей в семьях с отягощённой наследственностью. Возможно прерывание беременности по медицинским показаниям при наличии у родителей носительства генов заболеваний, сцепленных с полом (например, гемофилия или прогрессирующая мышечная дистрофия Дюшенна/Беккера – у матери). Также врачу важно знать пол плода для принятия решения о возможности гормональной терапии беременной в случае наличия у пациентки гиперандрогении надпочечникового генеза (врождённая дисплазия коры надпочечников, ВДКН) или других маскулинизирующих эндокринных заболеваниях.

Основным методом пренатального установления пола будущего ребенка сегодня является ультразвуковая диагностика, однако на ранних сроках беременности этот метод не всегда корректен и часто субъективен. Выявление фрагмента Y хромосомы в кровотоке матери с высокой достоверностью свидетельствует о беременности плодом мужского пола.

Научное обоснование

Показания к проведению исследования:

Наличие у беременных женщин маскулинизирующих эндокринных заболеваний, в том числе врожденной дисфункции коры надпочечников (ВДКН), для коррекции проведения лекарственной терапии.

При возможном носительстве женщинами генов гемофилии и других заболеваний, сцепленных с полом (умственная отсталость, связанная с Х-хромосомой; миодистрофия; адренолейкодистрофия; синдром Альпорта; иммунодефицит, связанный с Х-хромосомой; пигментный ретинит; гидроцефалия, связанная с Х-хромосомой; синдром Лоу; Х-связанный ихтиоз), особенно если ранее уже родился ребенок, имеющий подобное заболевание.

Предполагаемые нарушения детерминации пола плода по результатам УЗИ.

Противопоказания к проведению исследования:

1. Трансплантация органов и тканей от донора мужского пола.
2. Инверсия пола с наличием Y хромосомы у матери (в том числе мозаичные формы).

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

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Настоящая инструкция распространяется на набор реагентов для выявления фрагмента Y хромосомы плода в крови матери методом ПЦР в режиме реального времени Пол плода.

1.2 Набор реагентов для выявления фрагмента Y хромосомы плода в крови матери методом ПЦР в режиме реального времени Пол плода предназначен для обнаружения мультикопийного фрагмента Y хромосомы плода в крови беременной женщины методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

1.3 В качестве биологического материала используют периферическую кровь.

1.4 Набор может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

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

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

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

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

2.1 Состав набора реагентов

Набор реагентов Пол плода выпускают в стандартной фасовке со смесью для амплификации в стрипах (маркируется - фасовка S, стрипы) или со смесью для амплификации в пробирках (маркируется – фасовка S, пробирки).

Наименование компонентов	Количество пробирок / стрипов	Номинальный объём компонента
REF R1-H803-S 3/9 (фасовка S, стрипы)		
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	2 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец	1 пробирка	75 мкл
Крышки для стрипов	12 шт.	
REF R1-H803-23/9 (фасовка S, пробирки)		
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	96 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	2 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец	1 пробирка	75 мкл

2.2 Число анализируемых проб

Набор реагентов, включающий 96 пробирок, предназначен для одноразового применения и рассчитан на проведение 48 определений (не более 46 неизвестных образцов в двух повторах каждый, отрицательного контрольного образца (в трёх повторах) и положительного контрольного образца).

2.3 Принцип метода

Метод: Полимеразная цепная реакция (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени; качественный мультиплексный анализ.

В основе работы наборов реагентов лежит принцип амплификации ДНК методом ПЦР. Процесс амплификации заключается в серии повторяющихся циклов температурной денатурации ДНК, отжига праймеров комплементарных специфическому участку ДНК и последующей достройке полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается методикой приготовления

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

реакционной смеси, состоящей из двух слоёв, разделённых прослойкой из парафина. Смешение слоёв и превращение их в реакционную смесь происходит только после плавления парафина, что исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

Набор реагентов Пол плода включает: смесь для амплификации, специфичную для определения наличия мультикопийного фрагмента Y хромосомы и геномной ДНК человека (КВМ). КВМ используется для анализа качества выделения и позволяет определить, достаточно ли полученного количества ДНК для исследования. Расчёт результатов исследования основан на оценке значений Ср индикаторных циклов исследуемых мишеней.

В реакционную смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых несёт флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. При образовании специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, действие гасителя на флуоресцентную метку прекращается, что ведёт к возрастанию уровня флуоресценции. Количество разрушенных зондов (а, следовательно, и уровень флуоресценции) увеличивается пропорционально количеству образовавшихся специфических ампликонов и измеряется на каждом цикле амплификации.

В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продукта амплификации мультикопийного фрагмента Y хромосомы, включена флуоресцентная метка Fam. В состав ДНК-зондов, использующихся для детекции продуктов амплификации КВМ, входит флуоресцентный краситель Hex.

Использование нескольких флуоресцентных красителей позволяет сократить количество пробирок, поскольку появляется возможность одновременно регистрировать результаты разных реакций амплификации, проходящих в одной пробирке. В таблице 1 приведены каналы детекции продуктов амплификации и ДНК-мишени, определяемые набором.

Таблица 1 – Перечень ДНК-мишеней, определяемых набором, и каналов детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
Фрагмент Y хромосомы	КВМ	-	-	-

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

Исследование с использованием набора реагентов состоит из следующих этапов: выделение ДНК (пробоподготовка) с использованием комплекта реагентов ПРОБА-НК-ФЕТ и ПЦР-амплификация в режиме реального времени с использованием набора реагентов Пол плода.

Для проведения ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени используют амплификаторы детектирующие (ООО «НПО ДНК-Технология») ДТпрайм, ДТлайт и ДТ-96 со специальным программным обеспечением.

2.4 Время проведения анализа (без учета пробоподготовки): от 2 ч.

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

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

3.1 Специфичность анализа

В результате амплификации образца фетальной ДНК, выделенной из крови беременной женщины и не содержащей фрагмент Y хромосомы, должны регистрироваться отрицательный результат по каналу Fam, но положительный по каналу Hex. В этом случае пол плода – женский.

В результате амплификации образца фетальной ДНК, содержащей фрагмент Y хромосомы, должны регистрироваться положительные результаты по каналам Fam и Hex. В этом случае пол плода – мужской.

Интерпретация результатов анализа проводится автоматически с помощью программного обеспечения к прибору (см. приложение 1).

3.2 Чувствительность анализа

Чувствительность набора при использовании комплекта реагентов для выделения фетальной ДНК из крови матери ПРОБА-НК-ФЕТ составляет 150 копий геномной ДНК (суммарной ДНК матери и плода) в 1,0 мл исследуемого образца плазмы крови.

Количество анализируемой суммарной ДНК матери и плода должно быть не менее 0,1 нг на амплификационную пробирку, что приблизительно соответствует Ср≤35,0 на канале детекции КВМ (Hex). При использовании меньшего количества ДНК (Ср>35,0 на канале детекции КВМ) будут получены недостоверные результаты.

3.3 Диагностические характеристики

Диагностическая чувствительность 100 % (92-100) %.

Диагностическая специфичность 100 % (90-100) %.

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

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические ПЦР исследования клинического материала с соблюдением 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», требований ГОСТ Р 52905 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности» и с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные.

К работе с набором реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

При работе с набором следует надевать одноразовые перчатки без талька.

Использовать только новые наконечники и пробирки.

Приготовление реакционной смеси следует проводить в ПЦР-боксах.

Этап ПЦР в реальном времени следует проводить в помещении, снабженном комплектами полуавтоматических или автоматических дозаторов, халатами и прочими принадлежностями.

Все лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

Дозаторы должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать бактерицидными облучателями в течение 30 минут.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

ВНИМАНИЕ! Удалять отходы с продуктами ПЦР необходимо только в закрытом виде. Не допускается открывать пробирки после амплификации.

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

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СП 1.3.2322-08.

При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Не допускается использовать набор реагентов:

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

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

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

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование и материалы:

- амплификатор детектирующий («ДТпрайм»[1], «ДТлайт[2]» или ДТ-96 производства ООО «НПО ДНК-Технология»);
- центрифуга для пробирок объёмом 4,5 мл, с RCF не ниже 1150 g, например, центрифуга EBA 20 Hettich (3461g или 6000 об/мин);
- центрифуга для пробирок объёмом 1,5 мл, с RCF не ниже 17000 g, например, центрифуга HERAEUS pico17 (17000 g или 13300 об/мин);
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 65 °С до 98 °С;
- микроцентрифуга-вортекс, например BioSan, Латвия или аналогичная;
- холодильник бытовой Стинол, Россия или аналогичный;
- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 0,2 мл или для стрипованных пробирок объёмом 0,2 мл, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия или аналогичные;
- дозаторы механические или электронные переменного объёма одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 2 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл, например Eppendorf, Германия или аналогичные;
- одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл, например Axygen, США или аналогичные;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость с дезинфицирующим раствором для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- комплект реагентов для выделения фетальной ДНК из крови матери (ПРОБА-НК-ФЕТ производства ООО «ДНК-Технология ТС»).

Программное обеспечение для детектирующих амплификаторов:

- версия ПО не ниже 7.7.5.23[3];
- файл с параметрами анализа «Gender.ini».

---

[1] только модели 4М1, 4М3, 4М6, 5М1, 5М3, 5М6, 6М1, 6М3, 6М6

[2] только модели 4S1, 4S2, 5S1, 5S2, 6S1, 6S2

[3] по мере обновления программного обеспечения рекомендуемая версия ПО может измениться. Последнюю рекомендуемую версию ПО можно скачать на сайте компании «ДНК-Технология»: http://www.dnatechnology.ru/po/

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

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материалы для исследования

Для исследования используют цельную периферическую кровь человека.

Взятие цельной периферической крови

Необходимый объем крови составляет 4,0 - 4,5 мл. Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 4,5 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2–3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина и цитрата натрия в качестве антикоагулянта.

6.2 Транспортировка и хранение исследуемого материала

Рекомендуется начать обработку крови в первые два часа после ее взятия.

В случае невозможности проведения обработки крови в течение 2 часов допускается её хранение при температуре от 18 °С до 25 °С не более 4-8 часов.

6.3 Получение плазмы крови

Центрифугируйте пробирки с кровью при 2000 об/мин в течение 20 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.

Промаркируйте необходимое количество пробирок объёмом 1,5 мл (две для каждого исследуемого образца).

Не задевая нижнюю (клеточную) фракцию, отберите автоматическим дозатором по 900 мкл верхней фракции (плазма) и перенесите в две промаркированные пробирки.

ВНИМАНИЕ! Для выделения ДНК используется только **одна** пробирка! Вторая пробирка может быть заморожена при минус 20 °С или ниже, при необходимости, используется для повторного выделения ДНК.

До начала выделения пробирки с плазмой могут храниться при температуре от 4 °С до 8 °С в течение 8 часов.

При планировании выделения фетДНК на следующий день или позже, пробирки с плазмой необходимо заморозить при минус 20 °С или ниже. Замороженная плазма может храниться не более 3 месяцев. Перед началом выделения по одной пробирке каждого образца необходимо разморозить при комнатной температуре.

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

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Выделение ДНК из биологического материала

Выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией к используемому комплекту реагентов ПРОБА-НК-ФЕТ, производства ООО «ДНК-Технология ТС», Россия.

ВНИМАНИЕ! При использовании наборов для выделения фетДНК других производителей, могут быть получены некорректные результаты.

Одновременно с выделением ДНК из периферической крови необходимо провести через все этапы пробоподготовки отрицательный контрольный образец, входящий в состав комплекта реагентов для выделения фетальной ДНК из крови матери (ПРОБА-НК-ФЕТ), в объеме согласно инструкции к набору реагентов для выделения ДНК.

7.2 Подготовка и проведение ПЦР

ВНИМАНИЕ! Так как фетальная ДНК находится в крови беременной женщины в минимальном количестве, анализ каждого образца ДНК необходимо проводить в дублях. В противном случае могут быть получены некорректные результаты.

7.2.1 Промаркируйте по две пробирки стрипов (или по две отдельные пробирки) со смесями для амплификации для каждого исследуемого образца, одну для положительного контрольного образца (К+), и три для отрицательного контрольного образца (К-).

Например, необходимо проанализировать два образца. Нужно промаркировать восемь пробирок – четыре для исследуемых образцов, одну для К+ и три для К- (см. таблицу 2).

Таблица 2 – Пример маркировки пробирок для проведения ПЦР

Образец 1	Пробирки 1 - 2
Образец 2	Пробирки 3 - 4
К+	Пробирка 5
К-	Пробирки 6 - 8

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

7.2.2 Встряхните пробирку с раствором Taq-полимеразы в течение 3-5 с и центрифугируйте в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.3 Внесите в промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.

7.2.4 Внесите в промаркированные пробирки по одной капле (приблизительно 20 мкл) минерального масла. Закройте крышки стрипов или пробирок.

7.2.5 Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышку только того стрипа (или только той пробирки), в который будет вноситься данный образец, и закрывать её перед внесением следующего. Препараты ДНК следует вносить наконечниками с фильтром.

7.2.6 Внесите, не повреждая слой парафина по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК в соответствующие пробирки для исследуемых образцов (2 шт. для каждого образца). В пробирки маркированные К+ и К- ДНК не вносится.

7.2.7 Внесите, не повреждая слой парафина по 5,0 мкл положительного контрольного образца в пробирку, маркированную К+. Внесите, не повреждая слой парафина по 5 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК в пробирки, маркированные К- (всего 3 шт.).

7.2.8 Центрифугируйте стрипы (пробирки) в течение 1-3 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.9 Установите все стрипы (пробирки) в блок детектирующего амплификатора. Рекомендуется располагать пробирки по центру термоблока.

7.2.10 Запустите программное обеспечение RealTime_PCR, в режиме «Работа с прибором», загрузите файл "Gender.ini", добавьте в протокол тест «Gender», укажите количество и идентификаторы образцов, отметьте расположение пробирок на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. п. 7.2.8) и проведите ПЦР. При выборе теста «Gender» в окне «Запуск программы амплификации» должна отображаться программа, приведённая в таблице 3.

ВНИМАНИЕ! При использовании других амплификаторов необходимо уточнить программу амплификации у представителя компании «ДНК-Технология».

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

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов ДТлайт, ДТпрайм и ДТ-96

№ блока	Температура, °С	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		Цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		√	
3	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		√	
4	94	0	5	1		Цикл
5	10	…	…	хранение		хранение

Тесты (ini файлы) для приборов ДТпрайм, ДТлайт и ДТ-96 предоставляются производителем набора реагентов.

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

8 РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

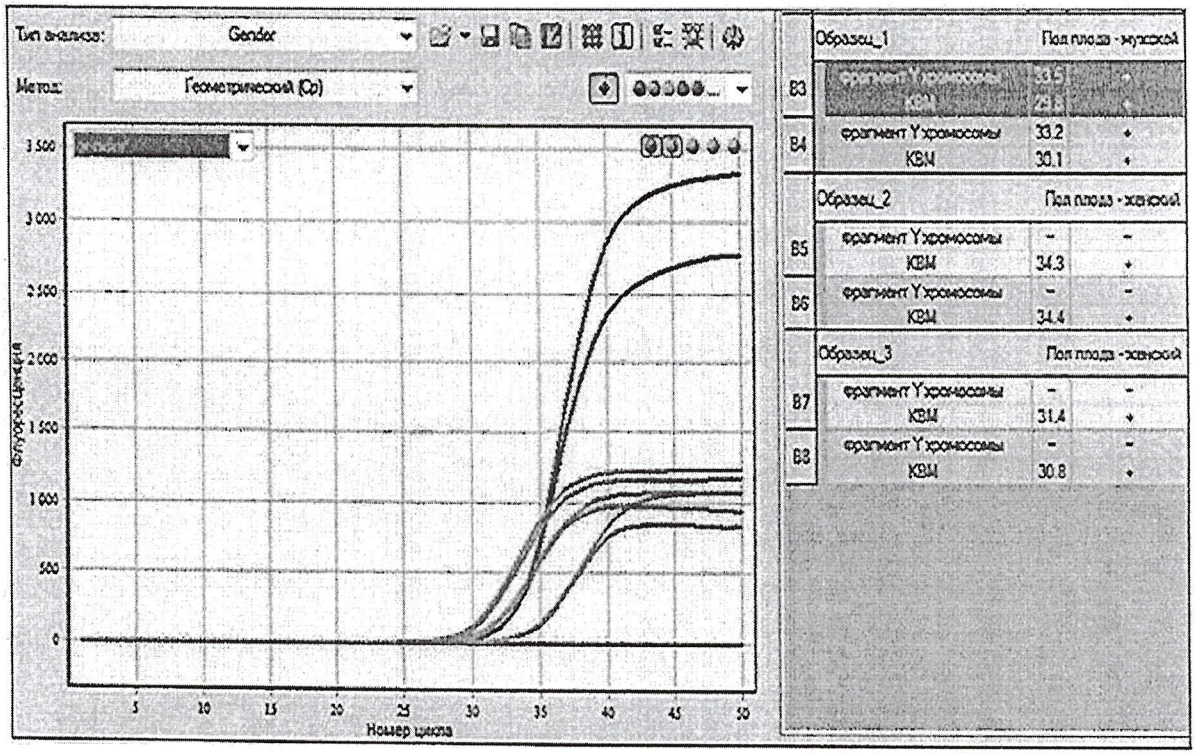
8.1 Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации.

8.2 Детекция и учёт результатов осуществляются амплификатором детектирующим автоматически.

8.3 После окончания программы амплификации на экране появится соответствующее информационное сообщение и будет предложено перейти к анализу результатов. Анализ проводится автоматически программным обеспечением.

8.4 На графике будет отображена зависимость флуоресценции от номера цикла по всем используемым каналам для каждой пробирки в термоблоке. В таблице справа будет показан идентификатор образца, индикаторные циклы по двум каналам (Ср) и результат исследования по дублям.

Пример выдачи результатов прибором:



По результатам анализа можно сформировать и распечатать отчёт.

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

9 УЧЁТ РЕЗУЛЬТАТОВ ПЦР

9.1 Учёт и интерпретация результатов реакции осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с детектирующим амплификатором.

9.2 Результат исследования для каждого образца определяется программным обеспечением автоматически с учётом значений Ср по каналу Fam (специфический фрагмент Y хромосомы) и по каналу Hex (КВМ) в совокупности по дублям для этого образца (см. Приложение 1).

9.3 В образцах, прошедших ПЦР и содержащих достаточное количество ДНК, для которых получены корректные значения Ср, программа определяет генотип исследуемого образца, который отображён в таблице в графе «Результат». В этом случае выдается заключение по результатам исследования.

9.4 Для образцов с недостаточным для анализа количеством ДНК (Ср>35,0 на канале детекции КВМ), некорректными значениями Ср, или при несовпадении результатов по дублям, программа определяет сомнительные или недостоверные результаты, в графе "Результат" будет указано соответственно "?" или "нд". В этом случае требуется повторное проведение ПЦР с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР, либо повторное взятие клинического материала (выполняется последовательно).

9.5 Для отрицательного и положительного контрольных образцов должны быть получены результаты, приведенные в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты исследования для отрицательных и положительных контрольных образцов

Внесенный материал	Выбранный флуорофор	
	Fam (фрагмент Y хромосомы)	Hex (КВМ)
«К+»	Ср ≤35	Ср ≤35
«К-» (3 повтора)	Ср не указан или >39	Ср не указан или >39

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

9.6 При получении для отрицательного контрольного образца результатов, отличающихся от значений, указанных в таблице 4, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

9.7 При получении для положительного контрольного образца значений, отличающихся от значений, указанных в таблице 4, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

Ниже представлены варианты результатов исследования и бланки ответа:

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

Образец 1, результат исследования «Пол плода – женский».

	Образец_1		Пол плода - женский
B3	фрагмент Y хромосомы	–	–
	КВМ	32.8	+
B4	фрагмент Y хромосомы	–	–
	КВМ	32.6	+

Бланк ответа

Пренатальная диагностика.

Пол плода.

Дата
Номер пробирки
Ф.И.О. пациента
Пол
Возраст
Организация
Врач
Примечание

Печатка

Информация о лаборатории

Идентификатор образца Образец_1

Название исследования	Результат	Интерпретация результата
Выявление фрагмента Y хромосомы	Не выявлен	Пол плода – женский.

Внимание: Точность результата составляет 96-100% при сроке беременности более 8 недель.

Исследование выполнил

Дата
Подпись

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

Образец 2, результат исследования «Пол плода – мужской».

	Образец_2		Пол плода - мужской
B5	Фрагмент Y хромосомы	31.2	+
	КВМ	33.2	+
B6	Фрагмент Y хромосомы	31.2	+
	КВМ	33.2	+

Бланк ответа

Пренатальная диагностика.

Пол плода.

Дата
Номер пробирки
Ф.И.О. пациента
Пол
Возраст
Организация
Врач
Примечание

Логотип

Информация о лаборатории

Идентификатор образца Образец_2

Название исследования	Результат	Интерпретация результата
Выявление фрагмента Y хромосомы	Выявлен	Пол плода – мужской.

Внимание: Точность результата составляет 96-100% при сроке беременности более 8 недель.

Исследование выполнил

Дата
Подпись

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

10 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

10.1 Транспортирование

10.1.1 Транспортирование набора осуществляют в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытого транспорта при температурах, соответствующих условиям хранения компонентов, входящих в состав набора.

10.1.2 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

10.2 Хранение

10.2.1 Набор реагентов следует хранить в течение всего срока годности при температуре от 2 °С до 8 °С в холодильных камерах или в холодильниках.

10.2.2 Смеси для амплификации следует хранить в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора.

10.2.3 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

10.3 Указания по эксплуатации

10.3.1 Набор должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

10.3.2 После вскрытия упаковки компоненты набора следует хранить при следующих условиях:

- компоненты набора следует хранить в течение всего срока годности при температуре от 2 °С до 8 °С в холодильных камерах или в холодильниках;
- смеси для амплификации следует хранить в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора.

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

11 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

11.1 При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б, которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

11.2 Наборы, пришедшие в непригодность, в том числе, в связи с истечением срока годности и неиспользованные реактивы, относятся к классу Б и подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10.

11.3 Упаковка набора реагентов (коробки, грипперы) после использования по назначению, относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

12 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

12.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных техническими условиями.

12.2 Срок годности набора – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

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

13 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА

IVD	Только для in vitro диагностики		Дата производства
	Температурный диапазон		Содержит инструкцию по применению
	Количество определений	REF	Каталожный номер
	Годен до		Адрес производителя
LOT	Серия набора		Не допускается воздействие солнечного света

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

14 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001:2008 в области разработка, производство и продажа IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики и другого лабораторного применения и EN ISO 13485:2012 в области разработка, производство и продажа IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

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

Адрес производителя: ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, 117246, г. Москва, Научный проезд, д. 20, стр. 4.

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

Рекламации по вопросам качества набора реагентов Пол плода, следует направлять по адресу: ООО «ДНК-Технология», 117587, г. Москва, Варшавское шоссе, д. 125 ж, к.6., тел./факс +7 (495) 640-17-71, www.dna-technology.ru

Служба клиентской поддержки: 8 (800) 200-75-15 (звонок по России бесплатный),

E-mail: hotline@dna-technology.ru

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»: http://www.dna-technology.ru/customer_support/

Ведущий научный сотрудник
ООО «НПФ ДНК-Технология», Кириллов М.Ю.

«03» 08 2017 г.

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

Приложение 1

Принципы вычисления и интерпретации результатов исследования программным обеспечением

ВНИМАНИЕ! Анализ проводится программным обеспечением автоматически. Изложенные в данном приложении принципы вычисления результатов носят информативный характер и **не предназначены** для проведения пользователями самостоятельных расчетов.

Расчёт результатов исследования основан на оценке значений Ср индикаторных циклов исследуемых мишеней.

Принципы интерпретации результатов исследования

Значение Ср по каналу Fam	Результат по каналу Fam	Значение Ср по каналу Hex	Результат по каналу Hex	Интерпретация результата
Ср ≤35	+	Ср ≤35	+	Пол плода - мужской
Ср не указан* или >37	-	Ср ≤35	+	Пол плода - женский

Примечание – Результаты в дублях для каждого образца должны совпадать качественно (наличие или отсутствие сигнала флюоресценции в интервалах Ср, указанных в таблице).

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