

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2017/5309**Комплект реагентов для выделения фетальной ДНК из крови матери**
ПРОБА-НК-ФЕТ**Информация о комплекте****1 НАЗНАЧЕНИЕ**

- 1.1** Комплект реагентов предназначен для выделения фетальной ДНК (ДНК плода) из крови матери. Полученный препарат фетДНК будет содержать небольшое количество геномной ДНК матери.
- 1.2** Комплект может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.
- 1.3** Комплект рассчитан для выделения фетальной ДНК из 50 анализируемых образцов (включая отрицательные контрольные образцы) (таблица 1).

Таблица 1

ПРОБА-НК-ФЕТ	
Материал для исследования	Периферическая кровь
Количество определений	50

2 ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКТА**2.1** Состав комплекта

Реактив	Количество	
• Лизирующий раствор ¹	15 мл	1 флакон
• Реагент для преципитации	30 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №1	25 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №2	15 мл	1 флакон
• Буфер для растворения	1,4 мл	2 пробирки
• Депротеинизирующий раствор ²	1,0 мл	1 пробирка
• Отрицательный контрольный образец	13,5 мл	1 флакон

2.2 Время проведения выделения – от 2 часов.**3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

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

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 является безопасным.

4 МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

При работе с комплектом реагентов ПРОБА-НК-ФЕТ требуются следующие оборудование и материалы:

- центрифуга для пробирок объемом 4,5 мл, с RCF не ниже 1150 g, например, центрифуга EBA 20 Hettich (3461g или 6000 об/мин);
- центрифуга для пробирок объемом 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 °C до 98 °C;

¹При хранении допускается выпадение небольшого количества осадка в лизирующем растворе, который растворяется при прогревании лизирующего раствора при 65 °C.

²При хранении допускается выпадение небольшого количества осадка в депротеинизирующем растворе, что не влияет на качество выделенной фетДНК.

- микроцентрифуга/вортекс;
- холодильник бытовой с морозильной камерой;
- насос с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей;
- контейнер для замораживания, например, штатив IsoFreeze 24x1,5/2 мл, SSI, или штатив CoolRack M15, 15x1,5/2 мл, Bioscion, или другое аналогичное оборудование;
- пробирки одноразовые пластиковые объемом 1,5 мл;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл;
- дозаторы полуавтоматические одноканальные с переменным объемом, позволяющие отбирать объемы жидкости 2–20 мкл, 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА.

5 ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

5.1 Взятие цельной периферической крови

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объемом 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. Необходимый объем крови составляет 4,0 - 4,5 мл.

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

5.2 Транспортирование 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 8 часов.

5.3 Подготовка исследуемого материала

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

5.3.2 Промаркируйте необходимое количество пробирок объемом 1,5 мл (по две для каждого исследуемого образца крови).

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

Внимание! Для выделения ДНК используется только одна пробирка! Вторая пробирка может быть заморожена при минус 20 °С и, при необходимости, использована для повторного выделения ДНК.

Полученная плазма готова для выделения фетДНК.

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. Замороженная плазма может храниться не более 3 месяцев. Перед началом выделения по одной пробирке каждого образца необходимо разморозить при комнатной температуре.

6 ВЫДЕЛЕНИЕ ФЕТАЛЬНОЙ ДНК ИЗ ПЛАЗМЫ

Перед началом работы необходимо достать из холодильника комплект реагентов для выделения фетальной ДНК ПРОБА-НК-ФЕТ и проконтролировать отсутствие осадка в лизирующем растворе. В случае выпадения осадка лизирующий раствор следует прогреть при 65 °С до полного растворения осадка. Пробирку с депротеинизирующим раствором необходимо выдержать при комнатной температуре 15-20 минут, затем перемешать в течение 10-15 сек и центрифугировать в течение 1-3 сек на микроцентрифуге/вортексе.

Примечание. Выпадение небольшого количества осадка допустимо и не влияет на качество депротеинизирующего раствора.

На данном этапе используйте только наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

6.1 Подготовьте к выделению фетДНК образцы плазмы из 5.3 (при необходимости разморозьте при комнатной температуре).

6.2 Промаркируйте одну пробирку объемом 1,5 мл «К-» и внесите в неё 900 мкл отрицательного контрольного образца.

6.3 Добавьте в каждую предназначенную для выделения ДНК пробирку с плазмой и в пробирку «К-» по 18 мкл депротеинизирующего раствора.

Внимание! Депротеинизирующий раствор обладает повышенной вязкостью, в связи с чем его необходимо набирать в наконечник пипетки в течение 3-5 сек и наносить на стенку пробирки (отдельным наконечником для каждого образца).

- 6.4** Плотно закройте крышки пробирок, встряхните пробирки в течение 10-20 сек и центрифугируйте в течение 1–3 сек на микроцентрифуге/вортексе.
- 6.5** Термостатируйте при температуре 98 °С в течение 5 мин.

Внимание! При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Рекомендуется использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат «Гном» производства ООО «НПО ДНК-Технология»).

Примечание. В случае если не используется специализированный штатив, необходимо подготовить ледяную баню. Ледяная баня состоит из ёмкости, в которую насыпается кусковой лёд из воды, помещается штатив для пробирок с открытым дном и наливается холодная вода. Ледяная смесь не должна доходить до крышек пробирок приблизительно 5 мм.

- 6.6** Поместите пробирки в охлаждающий штатив на 10 мин.

Внимание! Пробирки необходимо перенести в штатив сразу после термостатирования! Хранение пробирок не допускается, поскольку может привести к получению недостоверных результатов.

- 6.7** Осушите пробирки бумажной салфеткой. Центрифугируйте пробирки при 13300 об/мин в течение 25 мин при комнатной температуре.
- 6.8** Промаркируйте для каждого исследуемого образца и отрицательного контрольного образца «К-» по новой пластиковой пробирке объёмом 1,5 мл.
- 6.9** Отберите по 300 мкл супернатанта (из пробирки, маркированной «К-», 300 мкл раствора) и перенесите в соответствующие промаркированные пробирки.

Внимание! Если объём супернатанта менее 300, но более 100 мкл, отберите и перенесите весь объём. Если объём супернатанта менее 100 мкл, то, возможно, предыдущие этапы выделения фетДНК проведены некорректно (неправильные условия хранения крови или плазмы, несоответствие скоростных и временных условий центрифугирования образцов, несоблюдение температурных режимов). В этом случае необходимо провести повторное выделение фетДНК из дополнительной пробирки с плазмой или повторное взятие крови у пациентки.

- 6.10** Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки. Закройте крышки пробирок.
- 6.11** Встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 сек, осадите капли центрифугированием на вортексе в течение 30 сек.
- 6.12** Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 15 мин, осадите конденсат центрифугированием на вортексе в течение 30 сек.
- 6.13** Добавьте в каждую пробирку по 600 мкл реагента для преципитации, встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 сек.

Внимание! После добавления реагента для преципитации, пробирки необходимо выдержать в горизонтальном положении в течение 7-10 мин, однократно встряхнув на микроцентрифуге/вортексе в течение этого времени.

- 6.14** Центрифугируйте пробирки при 13300 об/мин в течение 15 мин при комнатной температуре.
- 6.15** Не задавая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 6.16** Добавьте к осадку 500 мкл промывочного раствора №1 и перемешайте на вортексе в течение 3-5 сек.
- 6.17** Центрифугируйте пробирки при 13300 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре.
- 6.18** Не задавая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 6.19** Добавьте к осадку 300 мкл промывочного раствора №2 и перемешайте на вортексе в течение 3-5 сек.
- 6.20** Центрифугируйте пробирки при 13300 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре.
- 6.21** Не задавая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 6.22** Откройте крышки пробирок и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 1 мин.
- 6.23** Добавьте к осадку 35 мкл буфера для растворения, закройте крышки и прогрейте пробирки при температуре 65 °С в течение 10 мин. Перемешайте на вортексе в течение 3-5 сек.
- 6.24** Осадите капли центрифугированием пробирок при 13300 об/мин в течение 30 сек при комнатной температуре. Полученный препарат ДНК готов для проведения ПЦР. Препарат ДНК можно хранить при температуре минус 20 °С не более 3 месяцев или при температуре минус 70 °С не более 1 года.

7 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ КОМПЛЕКТА

- 7.1** Срок годности комплекта – 12 месяцев со дня приёма ОТК предприятия-изготовителя при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

7.2 Комплект реагентов следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности.

Примечание. При хранении допускается выпадение небольшого осадка в лизирующем и депротеинизирующем растворе.

- 7.3** Транспортирование комплекта осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 °С до 8 °С в течении всего срока годности комплекта.
- 7.4** Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению комплекта.
- 7.5** Комплект с истекшим сроком годности использованию не подлежит.
- 8** **УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ**
- 8.1** Комплекты, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности и неиспользованные реактивы, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.
- 8.2** Непригодные для использования комплекты реагентов, упаковка комплектов реагентов (пробирки, флаконы, полиэтиленовые пакеты с замком и коробки из картона) относятся к отходам класса А и утилизируются с бытовыми отходами.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для выделения фетальной ДНК из крови матери (ПРОБА-НК-ФЕТ), следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125Ж, корп.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/

Адрес производителя:











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

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.

Символы, используемые при маркировке комплекта

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