



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



814 2022-04-07

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2022/16810 от 05 апреля 2022 года



В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов ПРОБА-НК-УЛЬТРА.
Изучите полную инструкцию № 711 перед началом работы. Ознакомьтесь с текстом инструкции № 711 по применению набора реагентов ПРОБА-НК-УЛЬТРА на интернет-сайте компании «ДНК-Технология» по адресу: <http://www.dna-technology.ru/dnaproducts/reagents/med/> или обратитесь за ней к представителю компании.

Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот вирусов из плазмы крови с предварительным концентрированием (ПРОБА-НК-УЛЬТРА)

REF P-017-N/1

Информация о наборе

Назначение:

Набор реагентов предназначен для выделения нуклеиновых кислот вирусов из плазмы крови с предварительным концентрированием для последующего анализа методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

Количество исследуемых образцов: 100 анализируемых образцов, включая контрольные образцы.

Время проведения выделения нуклеиновых кислот: от 50 минут. Время выделения зависит от количества образцов в постановке.

Минимальное количество биоматериала для выделения нуклеиновых кислот: **250 мкл.**

Рекомендуемое количество биоматериала для повышения чувствительности исследования: **1000 мкл.**

Принцип метода основан на обработке образца многокомпонентным реагентом, концентрирующим нуклеиновые кислоты из объема первичного образца, лизисом полученного концентрата (осадка), спиртовой преципитацией нуклеиновых кислот, отмывкой и последующим растворением нуклеиновых кислот в буфере. После этого образец готов к постановке ПЦР или ОТ-ПЦР. Предварительное концентрирование образца позволяет повысить чувствительность детекции возбудителей в клиническом материале.

Состав набора:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объём компонента
Концентрирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость. Допускается наличие осадка, растворяющегося при нагревании	1 флакон	80 мл
Лизирующий раствор	Светло-голубая пенящаяся жидкость. Допускается наличие кристаллов, растворяющихся при нагревании	1 флакон	30 мл
Реагент для преципитации	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл
Промывочный раствор №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	50 мл
Промывочный раствор №2	Прозрачная бесцветная жидкость	2 флакона	по 25 мл
Буфер для растворения	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл
Отрицательный контрольный образец	Желтая прозрачная или с легкой опалесценцией жидкость	1 флакон	42 мл

Проведение анализа

1 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

1.1 Материал для исследования

Для исследования используют плазму крови, полученную из цельной периферической крови человека.

1.2 Взятие образцов периферической крови

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объемом 2,0–5,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта солью этилендиамина тетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия. Для перемешивания крови с антикоагулянта после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2–3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

1.3 Транспортирование и хранение исследуемых образцов

ВНИМАНИЕ! Время от взятия материала до получения плазмы не должно превышать 6 часов.

Транспортировать и хранить образцы крови до начала исследования при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Не допускается замораживание цельной крови!

1.4 Получение плазмы крови

Центрифугировать пробирки с кровью при RCF(g) 800–1600 в течение 20 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.

После центрифугирования отобрать с помощью дозатора верхнюю фракцию (плазма) и перенесите в отдельную пластиковую пробирку объемом 1,5 – 2,0 мл.

Допускается хранение полученной плазмы при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более 3 месяцев, при температуре от минус 68 °С до минус 72 °С не более одного года.

ВНИМАНИЕ! Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов плазмы.

2 ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

2.1 Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот

Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот регламентировано Инструкциями по применению наборов реагентов для проведения ПЦР или ОТ-ПЦР.

Для исключения ложноотрицательных результатов исследования и контроля качества исследования рекомендуется использование внутреннего контроля.

Внутренний контрольный образец может быть добавлен в клинические образцы на этапе выделения нуклеиновых кислот. Внутренний контрольный образец добавляют в клинический образец в количестве, указанном в инструкции по применению соответствующего набора для проведения ПЦР.

Для исключения ложноположительных результатов исследования и контроля качества исследования обязательно использование отрицательного контрольного образца с этапа выделения нуклеиновых кислот, одновременно с выделением нуклеиновых кислот вирусов из клинических образцов.

При проведении количественных исследований могут быть использованы калибровочные образцы в соответствии с инструкциями по применению соответствующего набора. Калибровочные образцы могут быть использованы начиная с этапа выделения. Калибровочные образцы подготавливают в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора.

2.2 Рекомендации при проведении выделения нуклеиновых кислот

На этапе выделения нуклеиновых кислот необходимо использовать только наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

Для повышения достоверности получаемых результатов на этапе выделения нуклеиновых кислот исследуемые образцы рекомендуется продублировать (для одного исследуемого образца провести две отдельные пробоподготовки).

Для предотвращения контаминации следует перед внесением образцов открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать ее перед внесением следующего.

2.3 Подготовка набора реагентов

Перед началом работы необходимо прогреть концентрирующий и лизирующий растворы при 65 °С на термостате в течение 15 мин. Затем перемешать растворы переворачиванием флакона вверх дном 5–10 раз, избегая пенообразования. Если концентрирующий и лизирующий растворы хранили при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С), то предварительный прогрев не требуется.

Реагент для преципитации и промывочный раствор №1 использовать в работе охлажденными для лучшей визуализации осадка. Для этого рекомендуется доставать их из холодильника непосредственно перед работой.

2.4 Подготовка образцов

Образцы плазмы, хранившиеся при температуре минус 18 °С и ниже, разморозьте при комнатной температуре или при температуре от 2 °С до 8 °С, перемешайте на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте при RCF(g) не ниже 14000 в течение 5 мин. Для исследования необходимо использовать надосадочную жидкость, не затрагивая осадка (при его наличии).

ИЗУЧИТЕ ИНСТРУКЦИЮ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ПЕРЕД НАЧАЛОМ РАБОТЫ!

Образцы плазмы, хранившиеся при температуре от 2 °С до 8 °С, а также контрольные и калибровочные образцы перемешайте на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.

2.5 Проведение анализа

- 2.5.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объемом 2,0 мл:
- пробирки для исследуемых образцов плазмы;
 - одна пробирка для отрицательного контрольного образца «К-»;
 - три пробирки для калибровочного образца «СТ1» (если указано в Инструкции по применению к набору для количественного исследования);
 - три пробирки для калибровочного образца «СТ2» (если указано в Инструкции по применению к набору для количественного исследования).
- 2.5.2 Внесите контрольные и калибровочные образцы в соответствии с Инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов.
- При использовании наборов реагентов производства ООО «НПО ДНК-Технология» и ООО «ДНК-Технология ТС»:
- Внесите в промаркированные пробирки (кроме пробирок «СТ1» и «СТ2»):
- при выделении РНК - по 10 мкл РНК-ВК "А";
 - при выделении ДНК - по 10 мкл ДНК-ВК;
 - в случае одновременного выделения РНК и ДНК - по 10 мкл РНК-ВК "А" и по 10 мкл ДНК-ВК.
- 2.5.3 Внесите в каждую пробирку по 800 мкл концентрирующего раствора.
- Примечание – При малом объеме исследуемого материала набор реагентов может быть применен для выявления нуклеиновых кислот в 250 мкл образца. В этом случае используйте концентрирующий раствор из расчёта 300 мкл на 250 мкл образца.
- 2.5.4 Внесите в пробирки, предназначенные для исследуемых образцов, по 1000 мкл предварительно подготовленных образцов плазмы крови, закройте пробирки.
- 2.5.5 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 1000 мкл отрицательного контрольного образца, закройте пробирку крышкой.
- 2.5.6 При выполнении количественного анализа в пробирки, маркированные «СТ1» и «СТ2», внесите по 20 мкл соответствующего калибровочного образца и по 980 мкл отрицательного контрольного образца. Закройте пробирки.
- 2.5.7 Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 2.5.8 Центрифугируйте при RCF(g) 900в течение 3 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
- 2.5.9 Удалите полностью надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, не задевая осадок.
- Примечание – В пробирках с калибровочными образцами «СТ1» и «СТ2», отрицательным контрольным образцом, а также в некоторых пробирках с анализируемыми образцами осадок может не визуализироваться.
- 2.5.10 Внесите в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь её края; закройте пробирки.
- 2.5.11 Встряхните все пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 10-15 с.
- 2.5.12 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 15 мин до полного растворения осадка. В течение инкубирования необходимо 2 раза встряхнуть пробирки с интервалом в 5 мин на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- Примечание – В случае сильной неоднородности лизатов уточните параметры центрифугирования, так как превышение оптимальных значений RPM может приводить к формированию осадков, трудно растворимых лизирующим буфером.
- 2.5.13 Встряхните все пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 2.5.14 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) не ниже 14000 в течение 30 с.
- 2.5.15 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл предварительно охлажденного реагента для преципитации.
- 2.5.16 Встряхните все пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 2.5.17 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) не ниже 14000 в течение 10 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
- 2.5.18 Удалите полностью надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, не задевая осадок.
- 2.5.19 Добавьте к осадку 500 мкл промывочного раствора №1, закройте крышки пробирок и 3–5 раз аккуратно переверните каждую пробирку.
- 2.5.20 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) не ниже 14000 в течение 1 мин.
- 2.5.21 Удалите полностью надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, не задевая осадок.
- 2.5.22 Добавьте к осадку 500 мкл промывочного раствора №2, закройте крышки пробирок и 3–5 раз аккуратно переверните каждую пробирку. Необходимо переворачивать каждую пробирку индивидуально.
- 2.5.23 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) не ниже 14000 в течение 1 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

ИЗУЧИТЕ ИНСТРУКЦИЮ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ПЕРЕД НАЧАЛОМ РАБОТЫ!

- 2.5.24 Удалите полностью надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, не задевая осадок.
- 2.5.25 Откройте крышки пробирок и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
- 2.5.26 Добавьте в каждую пробирку к осадку 100 мкл буфера для растворения. Закройте крышки пробирок.
- 2.5.27 Встряхните пробирки в течение 1–3 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 2.5.28 Инкубируйте пробирки в термостате при 65 °С в течение 10 мин.
- 2.5.29 Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 2.5.30 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) не ниже 14000 в течение 30 с.

Полученный препарат РНК необходимо в течение 2 часов использовать для постановки реакции обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции, так как препарат РНК не подлежит хранению.

Полученный препарат ДНК допускается хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более одного месяца или при температуре от минус 68 °С до минус 72 °С не более одного года.

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре, соответствующей условиям хранения компонентов набора, в течение всего срока годности. Допускается транспортирование в термоконтейнерах с хладоэлементами при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Все компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в защищённом от света месте в течение всего срока годности набора.

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

- концентрирующий раствор, лизирующий раствор, промывочный раствор №2 допускается хранить при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С);
- отрицательный контрольный образец, буфер для растворения следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С;
- реагент для преципитации, промывочный раствор №1 следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С и использовать в работе охлажденными.

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

По вопросам, касающимся качества набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот вирусов из плазмы крови с предварительным концентрированием (ПРОБА-НК-УЛЬТРА), следует обращаться в Службу 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

Символы, используемые при маркировке набора реагентов

 IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro	 REF	Каталожный номер	 LOT	Серия набора
	Температурный диапазон		Дата изготовления		Не стерильно
	Годен до		Обратитесь к инструкции по применению		Количество тестов
	Не допускается воздействие солнечного света		Адрес изготовителя		