

Регистрационное удостоверение
№ ФСР 2010/08867 от 13 октября 2016 года

Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС

Формы комплектации: ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Комплект реагентов ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС предназначен для получения препарата нуклеиновых кислот (НК) из биологического материала (таблица 1) для последующего анализа методом обратной транскрипции (РНК) и/или полимеразной цепной реакции (ДНК).

Комплектация ПРОБА-НК-ПЛЮС предназначена для получения большего объема ДНК (300 мкл) по сравнению с комплектацией ПРОБА-НК (50 мкл) с целью проведения в дальнейшем большего числа ПЦР-исследований.

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

2 ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКТА

2.1 Состав комплекта:

Реактив	Количество			
	ПРОБА-НК-ПЛЮС		ПРОБА-НК	
• Лизирующий раствор	15 мл	1 флакон	30 мл	1 флакон
• Реагент для преципитации	20 мл	1 флакон	40 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №1	25 мл	1 флакон	50 мл	1 флакон
• Промывочный раствор №2	15 мл	1 флакон	30 мл	1 флакон
• Буфер для растворения	15 мл	1 флакон	1,25 мл	4 пробирки
• Отрицательный контрольный образец	-	-	1,5 мл	2 пробирки
• Внутренний контрольный образец (РНК-ВК)	-	-	1,0 мл	1 пробирка
• Внутренний контрольный образец (ДНК-ВК)	-	-	1,0 мл	1 пробирка

ВНИМАНИЕ! Буфер для растворения различается для комплектации ПРОБА-НК и ПРОБА-НК-ПЛЮС. Использовать буфер для растворения из другой комплектации не допускается.

2.2 Число анализируемых проб. Комплект рассчитан на выделение НК из 50/100 анализируемых образцов (включая отрицательные контрольные образцы) (таблица 1).

Таблица 1

Комплектация	ПРОБА-НК	ПРОБА-НК-ПЛЮС
Каталожный номер	P-002/1	P-002/2
Материал для исследования	Плазма крови, слюна, мокрота, молоко, моча, сперма, секрет предстательной железы, ликвор, соскобы эпителиальных клеток с задней стенки глотки, из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища, мазки и смывы из полости носа и ротоглотки, фекалии, материал от падших и больных животных (мазки и смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки; фекалии; внутренние органы) и др.	Плазма крови, слюна, мокрота, молоко, моча, сперма, секрет предстательной железы, ликвор, соскобы эпителиальных клеток с задней стенки глотки, из уретры, цервикального канала, заднего свода влагалища и др.
Количество определений	100	50

ВНИМАНИЕ! При работе с наборами реагентов:

- ОТ-ГЕПАТОГЕН-С;
- ОТ-ГЕПАТОГЕН-С ГЕНОТИПИРОВАНИЕ (формат «Real-Time»);
- ВИЧ-ГЕН;
- ВГБ-ГЕН;
- набором реагентов для выявления РНК вируса гриппа А субтипа H5N1 («птичьего гриппа») (Influenza A virus subtype H5N1);
- с комплектами реагентов для обратной транскрипции РНК и ПЦР-амплификации кДНК HAV, HDV, HGV

необходимо использовать только комплектацию ПРОБА-НК.

2.3 **Время проведения выделения нуклеиновых кислот** – 1 час.

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 для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС) требуются следующие оборудование и материалы:

- термостат твердотельный, поддерживающий температуру 65–98 °С;
- центрифуга с RCF не ниже 13 000 g;
- микроцентрифуга-вортекс;
- холодильник бытовой с морозильной камерой;
- насос с колбой–ловушкой для удаления надосадочной жидкости;
- 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 20–200 мкл, 200–1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от РНКаз и ДНКаз, объемом 200 мкл, 1000 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость с дезинфицирующим раствором для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- транспортная среда для биопроб (ООО «НПО ДНК-Технология») и/или физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный.

При выделении НК из плазмы:

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

При выделении НК из мокроты (способ 1):

- 10% раствор трехзамещенного фосфорнокислого натрия x 12H₂O;
- 1M раствор HCl;
- 5% раствор хлорамина;
- вода дистиллированная.

При выделении НК из мокроты (способ 2):

- муколизин.

5 ВЗЯТИЕ И ПОДГОТОВКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

5.1 Плазма крови

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

5.1.1 Центрифугируйте пробирки с кровью при 3000 об/мин в течение 20 мин при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

5.1.2 После центрифугирования отберите полуавтоматическим дозатором верхнюю фракцию (плазма) и перенести в отдельную пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

ВНИМАНИЕ!

1. Время от момента взятия периферической крови до получения плазмы не должно превышать 6 часов. При необходимости плазму допускается хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более 3 месяцев.
2. Перед выделением НК плазму необходимо перемешать!

5.2 Мокрота

5.2.1 Способ 1

5.2.1.1 Примерно 500 мкл биологического материала перенесите в стерильную посуду.

5.2.1.2 Добавьте к пробе мокроты равный объем 10% трехзамещенного фосфорнокислого натрия x 12H₂O, плотно закройте крышкой и интенсивно встряхните.

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

5.2.1.4 Центрифугируйте при 1000 об/мин в течение 20 мин.

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

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

5.2.1.7 Центрифугируйте пробирку при 13 000 об/мин в течение 10 мин.

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

5.2.2 Способ 2

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

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

Обработанную мокроту допускается хранить в контейнере в течение суток при температуре от 2 °С до 8 °С или длительно при температуре не выше минус 16 °С (в случае необходимости повторного выделения РНК/ДНК).

5.3 Соскобы эпителиальных клеток

5.3.1 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 объемом 1,5 мл с транспортной средой (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного), аккуратно перемешайте.

5.3.2 Извлеките зонд, прижимая его к стенке пробирки и отжимая избыток жидкости. Пробирку плотно закройте.

5.3.3 Центрифугируйте пробирку при 13 000 об/мин в течение 10 мин.

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

Примечание - Перед взятием соскоба из цервикального канала необходимо удалить слизь стерильным ватным тампоном.

5.4 Моча

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

5.4.2 Перенесите 1,0 мл материала в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

5.4.3 Центрифугируйте пробирку при 13 000 об/мин в течение 10 мин.

5.4.4 Наиболее полно удалите надосадочную жидкость.

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

5.4.6 Центрифугируйте пробирку при 13 000 об/мин в течение 10 мин.

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

5.5 Слюна, ликвор, синовиальная жидкость

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

5.5.2 Перенесите 500 мкл материала в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

5.5.3 Центрифугируйте пробирку при 13 000 об/мин в течение 10 мин.

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

5.5.5 Добавьте к осадку 500 мкл физиологического раствора стерильного.

5.5.6 Центрифугируйте пробирку при 13 000 об/мин в течение 10 мин.

- 5.5.7 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок+жидкая фракция).
- 5.6 Сперма, секрет предстательной железы
- 5.6.1 Перенесите 20–30 мкл жидкого материала пипеткой в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл с транспортной средой (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного), встряхните пробирку на вортексе в течение 5–10 с.
- 5.6.2 Центрифугируйте пробирку при 13 000 об/мин в течение 10 мин.
- 5.6.3 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок+жидкая фракция).
- 5.7 Молоко
- 5.7.1 Соберите материал в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.
- 5.7.2 Аккуратно перемешайте и перенесите 1,0 мл материала в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл. Срок сбора молока не более 24 часов. Хранение в течение всего срока сбора при температуре от 2 °С до 8 °С.
- 5.8 Мазки и смывы
- 5.8.1 Центрифугируйте пробирку, содержащую анализируемый материал, при 13 000 об/мин в течение 10 мин.
- 5.8.2 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция).
- 5.9 Фекалии
- 5.9.1 Перенесите ~250 мг (мкл) фекалий в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл с 1,0 мл физиологического раствора стерильного.
- 5.9.2 Встряхните пробирку на вортексе в течение 5–10 с.
- 5.9.3 Центрифугируйте пробирку при 1000 об/мин в течение 2–3 мин.
- 5.9.4 Перенесите 800–1000 мкл надосадочной жидкости в новую пробирку объемом 1,5 мл, центрифугируйте при 13 000 об/мин в течение 10 мин.
- 5.9.5 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция).
- 5.10 Внутренние органы животных
- 5.10.1 Поместите ~250 мг исследуемого материала в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.
- 5.10.2 Добавьте 1,0 мл физиологического раствора стерильного.
- 5.10.3 Встряхните пробирку на вортексе в течение 3–5 с, центрифугируйте пробирку на микроцентрифуге-вортексе при 1000 об/мин в течение 3–5 с.
- 5.10.4 Удалите надосадочную жидкость.
- Полученный материал готов для выделения НК.
- 5.11 Транспортирование и хранение исследуемого материала
- Транспортировать и хранить образцы биологического материала до начала исследования следует при температуре от 2 °С до 8 °С не более 24 часов.
- Допускается хранить полученный материал при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более 3 месяцев.

6 ВЫДЕЛЕНИЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Примечание - В лизирующем растворе допускается выпадение осадка. Перед началом работы его необходимо растворить нагреванием флакона при 65 °С в течение 10 мин.

- 6.1 Промаркируйте для каждого исследуемого образца и отрицательного контрольного образца «К-» по одной пробирке объемом 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, мазки и смывы; фекалии), маркируются пробирки с подготовленным для исследования материалом в объеме 100 мкл.
- 6.2 Внесите по 10 мкл предварительно перемешанного внутреннего контрольного образца во все промаркированные пробирки (таблица 2).
- ВНИМАНИЕ!** Для комплектов реагентов для амплификации, не указанных в таблице 2, использование ВК на стадии пробоподготовки не предусмотрено.
- Примечание** - При одновременном исследовании образца на наличие инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами (HAV, HCV, HDV, HGV и HIV) и ДНК-содержащими вирусами (HBV), необходимо на стадии пробоподготовки внести два внутренних контроля (РНК-ВК + ДНК-ВК).

Таблица 2

РНК-ВК	ДНК-ВК
Наборы реагентов: ОТ-ГЕПАТОГЕН-С, ОТ-ГЕПАТОГЕН-С ГЕНОТИПИРОВАНИЕ (формат «Real-Time»), ВИЧ-ГЕН Набор реагентов для выявления РНК вируса гриппа А субтипа H5N1 («птичьего гриппа») (Influenza A virus subtype H5N1) Комплекты реагентов для ПЦР-амплификации кДНК HAV, HDV, HGV	Набор реагентов ВГБ-ГЕН

- 6.3 Внесите в каждую пробирку 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь её края.
- 6.4 Внесите по 100 мкл подготовленного биоматериала в пробирки для исследуемых образцов (за исключением пробирок с образцами, прошедшими предобработку с получением осадка (6.1), и пробирки «К-»).
- 6.5 В пробирку, маркированную «К-», внесите 100 мкл отрицательного контрольного образца (комплектация ПРОБА-НК), транспортной среды или физиологического раствора стерильного (комплектация ПРОБА-НК-ПЛЮС). Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на вортексе в течение 3–5 с.
- 6.6 Термостатируйте пробирки при 65 °С в течение 15 мин, центрифугируйте при 13 000 об/мин в течение 30 с.
- ВНИМАНИЕ!** При выделении РНК вируса гриппа А из тканей внутренних органов животных необходимо термостатировать пробирки при 65 °С в течение 30 мин, осадить конденсат центрифугированием при 1000 об/мин в течение 3–5 с и перенести надосадочную жидкость в новую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.
- 6.7 Добавьте 400 мкл реагента для преципитации и встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с.
- Примечание** - При выделении НК HAV, HCV, HDV, HGV, HBV и HIV пробирки необходимо встряхнуть на вортексе **дважды**.
- 6.8 Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 15 мин.
- 6.9 Не задевая осадок, **полностью** удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 6.10 Добавьте к осадку 500 мкл промывочного раствора №1, закройте крышками пробирок и 3–5 раз аккуратно переверните пробирки.
- 6.11 Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 5 мин.
- 6.12 Не задевая осадок, **полностью** удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 6.13 Добавьте к осадку 300 мкл промывочного раствора №2, закройте крышки пробирок и 3–5 раз аккуратно переверните пробирки.
- 6.14 Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 5 мин.
- 6.15 Не задевая осадок, **полностью** удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

6.16 Откройте крышки пробирок и высушите осадок при 65 °С в течение 5 мин.
6.17 Добавьте к осадку 50 мкл (комплектация ПРОБА–НК) или 300 мкл (комплектация ПРОБА–НК–ПЛЮС) буфера для растворения.

ВНИМАНИЕ!

1. Буфер для растворения различается для комплектиаций ПРОБА–НК и ПРОБА–НК–ПЛЮС. Использовать буфер для растворения из другой комплектиации не допускается.
2. При исследовании клинического материала на наличие инфекций, вызванных только РНК-содержащими вирусами (при работе с наборами ОТ-ГЕПАТОГЕН-С, ОТ-ГЕПАТОГЕН-С ГЕНОТИПИРОВАНИЕ, ВИЧ-ГЕН, комплектами для выявления HAV, HDV, HGV), рекомендуется растворять осадок в 16,5 мкл буфера для растворения, так как увеличение объема буфера для растворения приводит к пропорциональному разбавлению образца и уменьшению чувствительности анализа.
3. При работе с набором ВГБ-ГЕН, а также при одновременном исследовании образца на наличие инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами (HAV, HCV, HDV, HGV и HIV) и ДНК-содержащими вирусами (HBV), необходимо растворить осадок в 25 мкл буфера для растворения.

6.18 Осадите капли центрифугированием пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

6.19 Прогрейте пробирки при 65 °С в течение 10 мин. Встряхните пробирки на вортексе в течение 3–5 с.

ВНИМАНИЕ! При выделении НК HAV, HCV, HDV, HGV, HBV и HIV пробирки не встряхивать!

Центрифугируйте пробирки при 13 000 об/мин в течение 30 с.

Препарат НК готов для постановки реакции обратной транскрипции (РНК) или проведения ПЦР (ДНК).

Примечания

1. Полученный препарат РНК необходимо сразу использовать для постановки реакции обратной транскрипции. Препарат РНК не подлежит хранению.
2. Препарат ДНК можно 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.

7 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

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 нуклеиновых кислот (ПРОБА–НК/ПРОБА–НК–ПЛЮС) следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности комплекта.

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 строго 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.

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) относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

9 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

9.2 Срок годности комплекта - 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

10 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА–НК/ПРОБА–НК–ПЛЮС), 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.

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/

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.

Символы, используемые при маркировке комплекта реагентов

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