



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Комплект реагентов для выделения ДНК

ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА

Регистрационный номер

ФСР 2010/08696 (ЕРУЛ Г004-00110-00/02936599) от 19.05.2026

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ	5
2.1	Состав комплекта реагентов.....	5
2.2	Количество анализируемых образцов.....	6
2.3	Принцип метода	6
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	7
3.1	Минимальное количество биоматериала, из которого может производиться выделение ДНК	7
3.2	Функциональные характеристики комплекта реагентов	8
3.3	Интерферирующие вещества	8
3.4	Наборы реагентов, совместно с которыми может быть использован комплект реагентов для выделения ДНК.....	9
3.5	Эффективность комплекта реагентов	9
3.6	Воспроизводимость и повторяемость	9
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	10
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	12
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	14
6.1	Материал для выделения ДНК	14
6.2	Общие требования	14
6.3	Взятие материала для выделения ДНК	15
6.4	Транспортирование и хранение образцов биологического материала	15
6.5	Подготовка биологического материала для выделения ДНК	17
7	ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК.....	17
7.1	Проведение выделения ДНК.....	18
7.2	Хранение и использование препарата ДНК	26
8	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	27
8.1	Транспортирование	27
8.2	Хранение.....	27
8.3	Указания по эксплуатации.....	27
9	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	27
10	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	28
11	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	28
12	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ.....	28
13	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ И НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	29
14	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	30
	ПРИЛОЖЕНИЕ А	31

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
К–	- отрицательный контрольный образец
НК	- нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК)
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНКаза	- рибонуклеаза
ЭДТА	- этилендиаминтетраацетат

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование комплекта реагентов: Комплект реагентов для выделения ДНК (ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА), далее по тексту – комплект реагентов.

1.2 Назначение: комплект реагентов предназначен для выделения ДНК из биологического материала (амниотическая жидкость, бронхоальвеолярный лаваж, везикулярная жидкость, ликвор (спинномозговая жидкость), мазки с эндотрахеальных трубок, мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта, мазки/соскобы из дыхательных путей, мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта, мазки/соскобы с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое, мокрота, молоко, моча, образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты), периферическая/пуповинная кровь (цельная), периферическая/пуповинная кровь (лейкоциты крови), периферическая/пуповинная кровь (плазма крови), плевральная жидкость, секрет предстательной железы, синовиальная жидкость, слюна, смывы из ротоглотки и полости носа, смывы с эндотрахеальных трубок, соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза, фекалии (или меконий), экссудаты, эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты, эякулят (сперма)), а также из культур микроорганизмов, полученных из этого биоматериала, для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции.

1.3 Функциональное назначение: вспомогательное средство для диагностики *in vitro*.

1.4 Популяционные и демографические аспекты: применение комплекта реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

Противопоказаний к применению нет.

1.5 Область применения: комплект реагентов может быть использован в клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

1.6 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, осуществляющий взятие и предобработку клинического материала, а также специалисты, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинко-диагностической лаборатории в установленном порядке: врач клинко-диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (медицинский лабораторный техник).

1.7 Применять комплект реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ

Комплект реагентов выпускается в следующих комплектациях:

- ПРОБА-ГС;
- ПРОБА-ГС-ПЛЮС;
- ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА.

ВНИМАНИЕ!

1. **Комплектации ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС** используется для получения препарата ДНК из биологического материала (всех видов биоматериала, кроме цельной периферической/пуповинной крови) для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции.
2. Комплект реагентов в комплектации ПРОБА-ГС-ПЛЮС применяется для получения большего объема ДНК (300 мкл) по сравнению с комплектацией ПРОБА-ГС (100 мкл) с целью проведения в дальнейшем большего числа ПЦР-исследований.
3. **Комплектацию ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА** используется для получения препарата ДНК из цельной периферической/пуповинной крови для последующего проведения генетических исследований выделенной ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени.

2.1 Состав комплекта реагентов

2.1.1 Комплектация ПРОБА-ГС

REF P-003/1			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество флаконов/ пробирок	Номинальный объем компонента
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	1 флакон	15 мл
Сорбент	Жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	2 пробирки	по 1,0 мл
Промывочный раствор №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	20 мл
Промывочный раствор №2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	20 мл
Промывочный раствор №3	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	20 мл
Элюирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл

2.1.2 Комплектация ПРОБА-ГС-ПЛЮС

REF P-003/2			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество флаконов/ пробирок	Номинальный объем компонента
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	1 флакон	7,5 мл
Сорбент	Жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 пробирка	1,0 мл
Промывочный раствор №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл
Промывочный раствор №2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл
Промывочный раствор №3	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	10 мл
Элюирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	15 мл

2.1.3 Комплектация ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА

REF P-023/4			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество флаконов/ пробирок	Номинальный объём компонента
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	1 флакон	7,2 мл
Сорбент	Жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	1 пробирка	960 мкл
Промывочный раствор №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	19,2 мл
Промывочный раствор №2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	9,6 мл
Промывочный раствор №3	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	9,6 мл
Элюирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	14,4 мл

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

Комплектность:

- Комплект реагентов в одной из комплектаций – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 экз.
- Паспорт – 1 экз.

2.2 Количество анализируемых образцов

Комплект реагентов в комплектации ПРОБА-ГС рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 100 анализируемых образцов (не более 33 постановок), включая отрицательные контрольные образцы.

Комплект реагентов в комплектации ПРОБА-ГС-ПЛЮС рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 50 анализируемых образцов (не более 16 постановок), включая отрицательные контрольные образцы.

Комплект реагентов в комплектации ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 48 анализируемых образцов (не более 16 постановок), включая отрицательные контрольные образцы.

2.3 Принцип метода

Принцип метода основан на использовании для лизиса клеток сильного хаотропного агента – гуанидина тиоционата (GuSCN), и последующей сорбции ДНК на носителе (стеклянные бусы, диатомовая земля, стеклянное «молоко» и т.д.).

После отмывок в образце остается ДНК, сорбированная на носителе, с которого она легко снимается с помощью элюирующего раствора.

Метод удобен, технологичен и пригоден для подготовки образца к амплификации. Однако возможны потери ДНК вследствие необратимой сорбции на носителе, а также в процессе многочисленных отмывок. Особенно большое значение это имеет при работе с небольшими количествами ДНК в образце. Кроме того, даже следовые количества GuSCN могут ингибировать ПЦР. Поэтому при использовании этого метода очень важно тщательное соблюдение инструкции по применению.

Следует отметить, что из-за большого количества стадий добавления и удаления растворов при работе с образцом требуется аккуратность, т.к. возможна перекрестная контаминация между образцами образующейся аэрозолью ДНК.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Минимальное количество биоматериала, из которого может производиться выделение ДНК:

Биоматериал	Минимальное количество
Амниотическая жидкость	500 мкл
Бронхоальвеолярный лаваж	500 мкл
Везикулярная жидкость ¹	50 мкл
Ликвор (спинномозговая жидкость)	500 мкл
Мазки ¹ с эндотрахеальных трубок	50 мкл
Мазки/соскобы (отделяемое) ¹ из урогенитального тракта	50 мкл
Мазки/соскобы ¹ из дыхательных путей	50 мкл
Мазки/соскобы ¹ из желудочно-кишечного тракта	50 мкл
Мазки/соскобы ¹ с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое	50 мкл
Мокрота (способ 1)	500 мкл
Мокрота (способ 2)	1,0 мл
Молоко	50 мкл
Моча	1,0 мл
Образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты)	Образец диаметром до 5,0 мм (50–100 мг)
Периферическая/пуповинная кровь (цельная) ²	100 мкл
Периферическая/пуповинная кровь (лейкоциты крови)	50 мкл ³
Периферическая/пуповинная кровь (плазма крови)	50 мкл ³
Плевральная жидкость	500 мкл
Секрет предстательной железы	100 мкл
Синовиальная жидкость	500 мкл
Слюна	500 мкл
Смывы из ротоглотки и полости носа	300 мкл
Смывы с эндотрахеальных трубок	50 мкл
Соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) ¹ с конъюнктивы глаза	50 мкл
Фекалии (или меконий)	100 мкл/мг
Экссудаты ¹	50 мкл
Эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	1,0 мл
Эякулят (сперма)	100 мкл
Культуры микроорганизмов, выделенные из биоматериала ⁴	50 мкл

Примечания к таблице:

¹ – после проведения подготовки к выделению ДНК образцов биологического материала, взятых в Транспортную среду для биопроб СТОР-Ф, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640

² – только для комплектации ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА

³ – полученные из 1,5 мл цельной крови

⁴ – взятые в физиологический раствор

3.2 Функциональные характеристики комплекта реагентов:

- Выход ДНК (эффективность) составляет 700–2500 нг¹;
- Объём получаемого препарата ДНК: от 100 до 300 мкл.

3.3 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых/недостовверных) результатов.

Признаком полного ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта.

Для оценки возможной интерференции были выбраны эндогенные и экзогенные вещества, которые потенциально могут присутствовать в биологических образцах, взятых из соответствующих исследуемых биотопов.

Оценка влияния интерферирующих веществ в образцах биологического материала на результаты исследования, представлены в таблице ниже.

Вид биоматериала	Интерферирующее вещество	Исследованная концентрация в образце
Эндогенные вещества		
Амниотическая жидкость, бронхоальвеолярный лаваж, везикулярная жидкость, ликвор (спинномозговая жидкость), лейкоциты крови, мазки с эндотрахеальных трубок, мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта, мазки/соскобы из дыхательных путей, мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта, мазки/соскобы с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое, мокрота, молоко, моча, образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты), плевральная жидкость, синовиальная жидкость, секрет предстательной железы, слюна, смывы из ротоглотки и полости носа, смывы с эндотрахеальных трубок, соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза, фекалии (или меконий), экссудаты, эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты, эякулят (сперма)	Цельная кровь	5,0% v/v
Эндогенные вещества		
Амниотическая жидкость, бронхоальвеолярный лаваж, везикулярная жидкость, ликвор (спинномозговая жидкость), мазки с эндотрахеальных трубок, мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта, мазки/соскобы из дыхательных путей, мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта, мазки/соскобы с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое, мокрота, молоко, моча, плевральная жидкость, образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты), секрет предстательной железы, синовиальная жидкость, слюна, смывы из ротоглотки и полости носа, смывы с эндотрахеальных трубок, соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза, фекалии (или меконий), экссудаты, эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты, эякулят (сперма)	Слизь (муцин)	5,0% v/v

¹ – выход ДНК приведен для выделения из крови объёмом 100 мкл с содержанием лейкоцитов от $5,5 \times 10^9/\text{л}$ до $7,8 \times 10^9/\text{л}$

Вид биоматериала	Интерферирующее вещество	Исследованная концентрация в образце
Экзогенные вещества		
Периферическая/пуповинная кровь (цельная), периферическая/пуповинная кровь (плазма)	ЭДТА	до 2,0 мг/мл
Бронхоальвеолярный лаваж, мазки/соскобы из дыхательных путей, мазки с эндотрахеальных трубок, мокрота, смывы из ротоглотки и полости носа, смывы с эндотрахеальных трубок, эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	Лазолван® РИНО, РИНОФЛУИМУЦИЛ®, Тизин® Классик, Спрей Тантум® Верде, Гексорал® Раствор, Беродуал®, Сальбутамол-Тева, Гриппферон® Капли назальные	10% v/v
Амниотическая жидкость, бронхоальвеолярный лаваж, везикулярная жидкость, ликвор (спинномозговая жидкость), мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта, мазки/соскобы из дыхательных путей, мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта, мазки/соскобы с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое, мазки с эндотрахеальных трубок, мокрота, молоко, моча, плевральная жидкость, образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты), смывы из ротоглотки и полости носа, смывы с эндотрахеальных трубок, синовиальная жидкость, секрет предстательной железы, слюна, соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза, фекалии (или меконий), экссудаты, эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты, эякулят (сперма)	Хлоргексидина биглюконат	10% v/v

При добавлении гепарина в образцы биоматериала (кровь) ингибирование ПЦР наблюдалось при минимально исследованной концентрации интерферента, равной 110 МЕ/дл.

3.4 Наборы реагентов, совместно с которыми может быть использован комплект реагентов для выделения ДНК:

Сведения о совместимости приведены в инструкциях по применению наборов/комплектов реагентов, предназначенных для последующего анализа ДНК методом ПЦР и зарегистрированных в установленном порядке в Российской Федерации.

3.5 Эффективность комплекта реагентов

Эффективность комплекта реагентов установлена в ходе проведения клинических испытаний с использованием дополнительных наборов реагентов для амплификации при исследовании образцов биологического материала.

Эффективность комплекта реагентов составила 100% (95% ДИ: 99,39%–100%).

3.6 Воспроизводимость и повторяемость

Воспроизводимость составляет – 100%.

Повторяемость составляет – 100%.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15190-2023, 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», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Неизвестные образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с комплектом реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

При работе с микроорганизмами I–IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с СанПиН 3.3686-21 и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

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

Подготовку и проведение исследования биоматериала с использованием комплекта реагентов следует проводить в боксах биологической безопасности II класса.

Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое.

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

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники и др.) должны сбрасываться в контейнер для медицинских отходов, содержащий дезинфицирующий раствор.

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится выделение НК и постановка ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СанПиН 3.3686-21.

Отходы биоматериала (инфицированные или потенциально инфицированные), образцы после пробоподготовки, образующиеся в клинично-диагностических лабораториях, относятся к классу В и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и МУ 1.3.2569-09.

Опасные компоненты в комплекте реагентов

Компонент комплекта реагентов	Наличие/отсутствие опасного компонента	Указание на риски
Лизирующий раствор	Гуанидина тиоционат	H302, H312, H314, H332, H412
	Тритон X-100	H302, H314, H319, H412
Промывочный раствор №1	Гуанидина тиоционат	H302, H312, H314, H332, H412
Промывочный раствор №2	Изопропанол	H225, H319, H336
Промывочный раствор №3	Метилацетат	H225, H319, H336
Элюирующий раствор	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Сорбент	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Расшифровка обозначений: H302 – Вредно при проглатывании; H312 – Вредно при контакте с кожей; H314 – При попадании на кожу и глаза вызывает химические ожоги; H319 – Вызывает раздражение глаз; H225 – Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси; H332 – Вредно при вдыхании; H336 – Может вызывать сонливость и головокружение; H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.		

При работе с комплектом реагентов следует использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками, не глотать. При аварийных ситуациях возможно следующее: раздражение кожи и слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц. При контакте промыть пораженное место большим количеством воды и обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности контакт с организмом человека исключён.

Не использовать комплект реагентов:

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

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

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с комплектом реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

- бокс биологической безопасности II класса;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру от 50 °С;
- центрифуга для пробирок объемом 1,5 мл, обеспечивающая RCF(g) 16000;
- электрический лабораторный аспиратор с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей;
- одноразовые наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз, для электрического лабораторного аспиратора (при необходимости удаления надосадочной жидкости);
- микроцентрифуга-вортекс¹;
- холодильник с морозильной камерой;
- одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл;
- дозаторы механические или электронные переменного объема одноканальные, позволяющие отбирать объемы жидкости от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от ДНКаз и РНКаз, объемом 200 мкл, 1000 мкл;
- штатив для дозаторов;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников и других расходных материалов;
- дезинфицирующий раствор;
- физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный (при необходимости);
- транспортная среда, предназначенная для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований (при необходимости), рекомендуется транспортная среда для биопроб STOP-Ф, ООО «ДНК-Технология ТС», РУ № РЗН 2020/9640.

Дополнительно для выделения ДНК из периферической/пуповинной крови:

- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА или цитратом натрия;
- центрифуга для пробирок типа Vacuette.

Дополнительно для выделения нуклеиновых кислот из плазмы периферической/пуповинной крови:

- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА или цитратом натрия;
- центрифуга для пробирок типа Vacuette, обеспечивающая RCF(g) от 800 до 1600.

¹ – рекомендуется Встряхиватель лабораторный медицинский «ДТспин» по ТУ 32.50.50-003-96301278-2024, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2024/24070

Дополнительно для выделения ДНК из лейкоцитов периферической/пуповинной крови:

- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА или цитратом натрия;
- центрифуга для пробирок объемом 2,0 мл, обеспечивающая RCF(g) от 50 до 10000;
- пробирки микроцентрифужные объемом 2,0 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 2,0 мл.

Дополнительно при выделении ДНК из мокроты (способ 1):

- центрифуга, обеспечивающая RCF(g) 900;
- 10% раствор трёхзамещенного фосфорнокислого натрия $\times 12\text{H}_2\text{O}$;
- 1,0 М раствор HCl;
- 5,0% раствор хлорамина;
- вода дистиллированная.

Дополнительно при выделении ДНК из мокроты (способ 2):

- муколизин, например Реагент для предобработки слизистого материала «МУКОЛИЗИН» по ТУ 9398-159-01897593-2011, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, РУ № ФСР 2011/12082.

Дополнительно при выделении ДНК из фекалий:

- центрифуга для пробирок объемом 1,5 мл, обеспечивающая RCF(g) 10000 или 13000;
- Набор реагентов для предобработки биоматериала лизоцимом при выделении ДНК (ПРОБА-Л) по ТУ 21.20.23-134-46482062-2021, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/16776 (при необходимости).

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для выделения ДНК

Для выделения ДНК используют:

- для комплектаций ПРОБА-ГС и ПРОБА-ГС-ПЛЮС – периферическую/пуповинную кровь (плазму крови), периферическую/пуповинную кровь (лейкоциты крови), слюну, мочу, эякулят (сперму), секрет предстательной железы, ликвор (спинномозговую жидкость), мазки/соскобы из дыхательных путей, мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта, амниотическую жидкость, бронхоальвеолярный лаваж, везикулярную жидкость, мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта, мазки/соскобы с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое, мазки с эндотрахеальных трубок, мокроту, молоко, плевральную жидкость, образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты), синовиальную жидкость, смывы из ротоглотки и полости носа, смывы с эндотрахеальных трубок, соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза, фекалии (или меконий), экссудаты, эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты, а также культуры микроорганизмов, полученные из этого биоматериала;
- для комплектации ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА – цельную периферическую/пуповинную кровь.

Примечание – Взятие, предварительную обработку, хранение и перевозку, передачу исследуемого материала в другие организации осуществляют согласно инструктивно-методическим документам, регламентирующим выполнение исследований в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09 и СанПиН 3.3686-21.

6.2 Общие требования

- 6.2.1 Исследование методом ПЦР относится к прямым методам лабораторного исследования, поэтому взятие биологического материала человека необходимо проводить из места локализации инфекционного процесса. Решение о необходимости исследовать ту или иную локализацию принимает лечащий врач на основании собранного анамнеза и клинической картины заболевания.
- 6.2.2 Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортирование и предварительная обработка. Неправильное взятие биоматериала может привести к получению недостоверных результатов и, вследствие этого, необходимости его повторного взятия.
- 6.2.3 При необходимости взятия биоматериала из нескольких биотопов повторите процедуру, каждый раз забирая материал в отдельную транспортную ёмкость.
- 6.2.4 На этапах подготовки биоматериала используйте одноразовые наконечники, свободные от РНКаз и ДНКаз (с фильтром, за исключением этапа отбора надосадочной жидкости с использованием аспиратора).

- 6.2.5 При добавлении раствора в пробирку, содержащую биологический материал, аккуратно вносите жидкости, не касаясь стенок пробирок. При касании к стенке пробирки смените наконечник. Наконечник следует менять при каждом удалении раствора из образца.
- 6.2.6 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить образец/реагент или забирать жидкость, и закрывайте её перед работой со следующей пробиркой. Не допускается работать одновременно с несколькими пробирками с открытыми крышками.

6.3 Взятие материала для выделения ДНК

ВНИМАНИЕ! Перед выделением ДНК может потребоваться подготовка образцов биологического материала (6.5).

Взятие материала проводится в соответствии с таблицей А.1 (Приложение А).

В случае если взятие образцов биоматериала проводится в транспортную среду, предназначенную производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, взятие материала проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых для транспортирования и хранения образцов транспортных сред.

6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала

Транспортирование и хранение образцов биологического материала проводится в соответствии с таблицей 1.

В случае если взятие образцов биоматериала проводилось в транспортную среду, предназначенную производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, условия транспортирования и хранения образцов биологического материала определяются инструкциями по применению используемых для транспортирования и хранения образцов транспортных сред.

ВНИМАНИЕ! Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов.

Таблица 1 – Условия транспортирования и хранения образцов биологического материала перед выделением ДНК

Биоматериал	Температура транспортирования и хранения			
	минус 70 °С	от минус 22 °С до минус 18 °С	от 2 °С до 8 °С	от 18 °С до 25 °С
Амниотическая жидкость	длительно	не более 7 суток	не более 24 часов	–
Бронхоальвеолярный лаваж	–	не более 7 суток	не более 24 часов	–
Везикулярная жидкость	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Ликвор (спинномозговая жидкость)	–	–	не более 6 часов	не более 2 часов
Мазки/соскобы из дыхательных путей	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Мазки/соскобы с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Мазки с эндотрахеальных трубок	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Мокрота	–	–	не более 3 суток	не более 6 часов
Молоко	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Моча	–	не более 7 суток	не более 24 часов	–
Образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты)	длительно	не более 7 суток	не более 24 часов	–
Периферическая/пуповинная кровь	–	–	не более 6 часов	не более 2 часов
Плевральная жидкость	–	не более 7 суток	не более 24 часов	–
Секрет предстательной железы	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Синовиальная жидкость	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Слюна	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Смывы из ротоглотки и полости носа	длительно	не более 7 суток	не более 24 часов	–
Смывы с эндотрахеальных трубок	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Фекалии (или меконий)	–	–	не более 3 суток	не более 6 часов
Экссудаты	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	–	не более 7 суток	не более 24 часов	–
Эякулят (сперма)	–	не более 1 месяца	не более 24 часов	–
Культуры микроорганизмов ¹ , выделенных из биоматериала	длительно	не более 7 суток	не более 24 часов	–
Примечание к таблице:				
¹ – для бактериальных культур допускается многократное замораживание-оттаивание				

6.5 Подготовка биологического материала для выделения ДНК

Подготовка образцов биологического материала проводится в соответствии с таблицей А.2 (Приложение А).

В случае если взятие образцов биоматериала проводилось в транспортную среду, предназначенную производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, подготовка материала проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых для транспортирования и хранения образцов транспортных сред.

7 ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

ВНИМАНИЕ!

1. Для внесения и добавления реагентов и образцов используйте наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.
2. При работе с аспиратором используйте наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз.
3. Используемые наконечники меняйте при каждом удалении раствора из пробирки.
4. Для предотвращения контаминации всегда открывайте крышку только той пробирки, с которой идёт работа (внесение образца/реагента, удаление надосадочной жидкости), и закрывайте её после этого. Не допускается работать одновременно с несколькими пробирками с открытыми крышками.
5. При добавлении раствора в пробирку, содержащую биологический материал, вносите раствор аккуратно, не касаясь стенок пробирки. При касании стенки пробирки смените наконечник.
6. Одновременно с выделением ДНК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки.

Для подготовки отрицательного контрольного образца рекомендуется применять используемую транспортную среду или физиологический раствор.

7. Неизвестные образцы и контрольные образцы необходимо обрабатывать по единой схеме одновременно согласно данной инструкции.
8. Перед началом работы необходимо включить термостат для прогревания до 50 °С.
9. В лизирующем растворе и в промывочном растворе №1 допускается выпадение осадка. В случае выпадения осадка необходимо прогреть флаконы с растворами на термостате при температуре 50 °С до полного растворения осадка. Затем следует перемешать растворы переворачиванием флакона вверх дном 5–10 раз, избегая пенообразования. Перед использованием охладите растворы до комнатной температуры (от 18 °С до 25 °С). Осадок также можно растворить при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение приблизительно 12 часов.

7.1 Проведение выделения ДНК

Подготовка и проведение выделения ДНК с использованием комплекта реагентов ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА производится в зависимости от биоматериала, комплектации и применяемой методики (таблица 2):

Таблица 2 – Методики выделения в зависимости от используемого биоматериала

	ПРОБА-ГС		ПРОБА-ГС-ПЛЮС	ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА
	Стандартная	Для биоптатов		
	Пункт инструкции с методикой выделения			
Амниотическая жидкость	7.1.1	–	7.1.3	–
Бронхоальвеолярный лаваж	7.1.1	–	7.1.3	–
Везикулярная жидкость	7.1.1	–	7.1.3	–
Ликвор (спинномозговая жидкость)	7.1.1	–	7.1.3	–
Мазки/соскобы из дыхательных путей	7.1.1	–	7.1.3	–
Мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта	7.1.1	–	7.1.3	–
Мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта	7.1.1	–	7.1.3	–
Мазки/соскобы с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое	7.1.1	–	7.1.3	–
Мазки с эндотрахеальных трубок	7.1.1	–	7.1.3	–
Мокрота	7.1.1	–	7.1.3	–
Молоко	7.1.1	–	7.1.3	–
Моча	7.1.1	–	7.1.3	–
Образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты)	–	7.1.2	–	–
Периферическая/пуповинная кровь (цельная)	–	–	–	7.1.4
Периферическая/пуповинная кровь (плазма крови)	7.1.1	–	7.1.3	–
Периферическая/пуповинная кровь (лейкоциты крови)	7.1.1	–	7.1.3	–
Плевральная жидкость	7.1.1	–	7.1.3	–
Секрет предстательной железы	7.1.1	–	7.1.3	–
Синовиальная жидкость	7.1.1	–	7.1.3	–
Слюна	7.1.1	–	7.1.3	–
Смывы из ротоглотки и полости носа	7.1.1	–	7.1.3	–
Смывы с эндотрахеальных трубок	7.1.1	–	7.1.3	–
Соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза	7.1.1	–	7.1.3	–
Фекалии (или меконий)	7.1.1	–	7.1.3	–
Экссудаты	7.1.1	–	7.1.3	–
Эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	7.1.1	–	7.1.3	–
Эякулят (сперма)	7.1.1	–	7.1.3	–
Культуры микроорганизмов, выделенных из биоматериала	7.1.1	–	7.1.3	–

7.1.1 Подготовка и проведение выделения ДНК с использованием комплекта реагентов в комплектации ПРОБА-ГС. Стандартная методика выделения ДНК из биологического материала¹

7.1.1.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объемом 1,5 мл с учётом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).

Примечание – Для образцов, прошедших предобработку с получением осадка и надосадочной жидкости (Приложение А, таблица А.2), маркируются пробирки с подготовленным для исследования материалом в объёме 50 мкл.

7.1.1.2 Тщательно ресуспендируйте сорбент на микроцентрифуге-вортексе. Перевернув пробирку вверх дном, убедитесь, что сорбент не остался на дне пробирки. При необходимости повторите перемешивание сорбента.

7.1.1.3 Приготовьте смесь лизирующего раствора с сорбентом. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке:

- 150 x (N+1) мкл лизирующего раствора;
 - 20 x (N+1) мкл предварительно ресуспендированного сорбента,
- где N – количество анализируемых образцов с учётом «К-».

7.1.1.4 Закройте пробирку с приготовленной смесью лизирующего раствора и сорбента и перемешайте содержимое пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с или переворачиванием пробирки 5–10 раз, затем центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.1.1.5 Добавьте во все промаркированные пробирки (включая «К-») по 170 мкл полученной смеси.

7.1.1.6 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 50 мкл исследуемого материала (за исключением пробирок с образцами, прошедшими предобработку с получением осадка (см. таблицу 3), и пробирки «К-»).

7.1.1.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 50 мкл транспортной среды или стерильного физиологического раствора.

7.1.1.8 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.1.1.9 Термостатируйте пробирки при температуре 50 °С в течение 20 мин.

7.1.1.10 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.

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

7.1.1.12 Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №1, закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

¹ – виды биоматериала приведены в таблице 2

- 7.1.1.13 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.1.14 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.1.15 Добавьте к осадку по 200 мкл промывочного раствора №2, плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.1.16 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.1.17 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.1.18 Добавьте к осадку по 200 мкл промывочного раствора №3, плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.1.19 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.1.20 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.1.21 Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 50 °С в течение 5 мин.
- 7.1.1.22 Добавьте к осадку 100 мкл элюирующего раствора, плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 5–10 с.
- 7.1.1.23 Термостатируйте пробирки при температуре 50 °С в течение 5 мин.
- 7.1.1.24 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

7.1.2 Подготовка и проведение выделения ДНК с использованием комплекта реагентов в комплектации ПРОБА-ГС. Методика выделения ДНК из биоптатов и аналогичных видов биологического материала¹

- 7.1.2.1 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объёмом 1,5 мл для каждого неизвестного образца и для отрицательного контрольного образца (К-).
- 7.1.2.2 Добавьте в пробирки с подготовленными образцами (Приложение А, таблица А.2) и в пробирку «К-» по 150 мкл лизирующего раствора (не смешивая с сорбентом), не касаясь края пробирок.
- 7.1.2.3 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 50 мкл транспортной среды или стерильного физиологического раствора (см. 7).
- 7.1.2.4 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.2.5 Термостатируйте пробирки при температуре 50 °С в течение 30 мин, центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.2.6 Перенесите в соответствующие промаркированные пробирки для неизвестных образцов надосадочную жидкость. Для пробирки «К-» переносить надосадочную жидкость не требуется.
- 7.1.2.7 Тщательно ресуспендируйте сорбент на микроцентрифуге-вортексе. Перевернув пробирку вверх дном, убедитесь, что сорбент не остался на дне пробирки. При необходимости повторите перемешивание сорбента.
- 7.1.2.8 Добавьте во все пробирки (включая «К-») по 20 мкл предварительно ресуспендированного сорбента, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.2.9 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.2.10 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.2.11 Добавьте к осадку по 200 мкл промывочного раствора №1, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.2.12 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.2.13 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.2.14 Добавьте к осадку по 200 мкл промывочного раствора №2, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

¹ – виды биоматериала приведены в таблице 2

- 7.1.2.15 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.2.16 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.2.17 Добавьте к осадку по 200 мкл промывочного раствора №3, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.2.18 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.2.19 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.2.20 Откройте крышки пробирок и высушите осадок при 50 °С в течение 5 мин.
- 7.1.2.21 Добавьте к осадку по 100 мкл элюирующего раствора, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 5–10 с.
- 7.1.2.22 Термостатируйте пробирки при температуре 50 °С в течение 5 мин.
- 7.1.2.23 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

7.1.3 Подготовка и проведение выделения ДНК с использованием комплекта реагентов в комплектации ПРОБА-ГС-ПЛЮС. Стандартная методика выделения ДНК из биологического материала¹

7.1.3.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объемом 1,5 мл с учётом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).

Примечание – Для образцов, прошедших предобработку с получением осадка и надосадочной жидкости (Приложение А, таблица А.2), маркируются пробирки с подготовленным для исследования материалом в объёме 50 мкл.

7.1.3.2 Тщательно ресуспендируйте сорбент на микроцентрифуге-вортексе. Перевернув пробирку вверх дном, убедитесь, что сорбент не остался на дне пробирки. При необходимости повторите перемешивание сорбента.

7.1.3.3 Приготовьте смесь лизирующего раствора с сорбентом. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке:

- 150 x (N+1) мкл лизирующего раствора;
 - 20 x (N+1) мкл предварительно ресуспендированного сорбента,
- где N – количество анализируемых образцов с учётом «К-».

7.1.3.4 Плотно закройте пробирку с приготовленной смесью лизирующего раствора и сорбента и перемешайте содержимое пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с или переворачиванием пробирки 5–10 раз, затем центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.1.3.5 Добавьте во все промаркированные пробирки (включая «К-») по 170 мкл полученной смеси.

7.1.3.6 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 50 мкл исследуемого материала (за исключением пробирок с образцами, прошедшими предобработку с получением осадка (см. таблицу А.2), и пробирки «К-»).

7.1.3.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 50 мкл транспортной среды или стерильного физиологического раствора.

7.1.3.8 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.1.3.9 Термостатируйте пробирки при температуре 50 °С в течение 20 мин.

7.1.3.10 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.

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

7.1.3.12 Добавьте к осадку 200 мкл промывочного раствора №1, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.1.3.13 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.

¹ – виды биоматериала приведены в таблице 2

- 7.1.3.14 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.3.15 Добавьте к осадку по 200 мкл промывочного раствора №2, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.3.16 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.3.17 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.3.18 Добавьте к осадку по 200 мкл промывочного раствора №3, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.3.19 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.3.20 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.3.21 Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 50 °С в течение 5 мин.
- 7.1.3.22 Добавьте к осадку 300 мкл элюирующего раствора, плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 5–10 с.
- 7.1.3.23 Термостатируйте пробирки при температуре 50 °С в течение 5 мин.
- 7.1.3.24 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

7.1.4 Подготовка и проведение выделения ДНК с использованием комплекта реагентов в комплектации ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА. Стандартная методика выделения ДНК из биологического материала¹

- 7.1.4.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объёмом 1,5 мл с учётом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).
- 7.1.4.2 Тщательно ресуспендируйте сорбент на микроцентрифуге-вортексе. Перевернув пробирку вверх дном, убедитесь, что сорбент не остался на дне пробирки. При необходимости повторите перемешивание сорбента.
- 7.1.4.3 Приготовьте смесь лизирующего раствора с сорбентом. Для этого смешайте в отдельной одноразовой пробирке:
- 150 x (N+1) мкл лизирующего раствора;
 - 20 x (N+1) мкл предварительно ресуспендированного сорбента,
- где N – количество анализируемых образцов с учётом «К-».
- 7.1.4.4 Плотнo закройте пробирку с приготовленной смесью лизирующего раствора и сорбента и перемешайте содержимое пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с или переворачиванием пробирки 5–10 раз, затем центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.1.4.5 Добавьте во все промаркированные пробирки (включая «К-») по 170 мкл полученной смеси.
- 7.1.4.6 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 100 мкл цельной крови. В пробирку, промаркированную «К-», кровь не вносится.
- 7.1.4.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 100 мкл стерильного физиологического раствора.
- 7.1.4.8 Плотнo закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.4.9 Термостатируйте пробирки при температуре 50 °C в течение 10 мин.
- 7.1.4.10 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.4.11 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.4.12 Добавьте к осадку 400 мкл промывочного раствора №1, плотнo закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.4.13 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.4.14 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).

¹ – виды биоматериала приведены в таблице 2

- 7.1.4.15 Добавьте к осадку по 200 мкл промывочного раствора №2, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.4.16 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.4.17 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.4.18 Добавьте к осадку по 200 мкл промывочного раствора №3, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.4.19 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.
- 7.1.4.20 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.4.21 Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 50 °С в течение 5 мин.
- 7.1.4.22 Добавьте к осадку 300 мкл элюирующего раствора, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 5–10 с.
- 7.1.4.23 Термостатируйте пробирки при температуре 50 °С в течение 5 мин.
- 7.1.4.24 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

7.2 Хранение и использование препарата ДНК

Полученный препарат ДНК можно хранить до 7 суток при температуре от 2 °С до 8 °С. Перед использованием препарата ДНК для постановки ПЦР необходимо:

1. Термостатировать пробирки при 50 °С в течение 5 мин.
2. Центрифугировать пробирки при RCF(g) 16000 в течение одной минуты.

Препарат ДНК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

Если препарат ДНК предполагается хранить более 7 суток, перенесите надосадочную жидкость в отдельную одноразовую пробирку. Более 7 суток препарат ДНК следует хранить при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С.

Срок хранения препарата ДНК при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С – не более 6 месяцев.

Перед использованием препарата ДНК для постановки ПЦР после хранения необходимо разморозить препарат ДНК и отрицательный контрольный образец при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С, затем встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ! Для препарата ДНК допускается только однократное размораживание!

Препарат ДНК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

8 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

8.1 Транспортирование

- 8.1.1 Транспортирование комплекта реагентов осуществляют в термоконтейнерах с холодоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав комплекта реагентов.
- 8.1.2 Комплекты реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8.2 Хранение

- 8.2.1 Все компоненты комплекта реагентов следует хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в течение всего срока годности комплекта реагентов.
При хранении допускается выпадение небольшого осадка в лизирующем растворе и в промывочном растворе №1.
- 8.2.2 Комплекты реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

8.3 Указания по эксплуатации

- 8.3.1 Комплект реагентов должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению.
- 8.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению комплекта реагентов.
- 8.3.3 После вскрытия упаковки компоненты комплекта реагентов следует хранить при следующих условиях:
- все компоненты комплекта реагентов следует хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в течение всего срока годности комплекта реагентов;
 - лизирующий раствор и промывочный раствор №1 следует хранить в защищённом от света месте в течение всего срока годности комплекта реагентов.
- 8.3.4 Комплекты реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

9 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

9.1 При использовании комплекта реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

9.2 Комплекты реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

10 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

10.2 Срок годности комплекта реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

11 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Комплект реагентов предназначен для однократного применения и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

12 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Температурный диапазон		Номер по каталогу
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Изготовитель
	Использовать до		Не допускать воздействия солнечного света
	Код партии (серии)		Нестерильно
	Дата изготовления		Осторожно

13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ И НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ТУ 9398-037-46482062-2009 Комплект реагентов для выделения ДНК (ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-ГС-ГЕНЕТИКА)

ГОСТ ISO 14971-2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ Р 2.105-2019 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия

ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции. Основные положения

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний

ГОСТ Р 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований, Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов

ГОСТ Р ИСО 15190-2023 Лаборатории медицинские. Требования безопасности

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2024 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики in vitro для профессионального использования

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем, при пользовании документом целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.

14 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов/комплектов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения, и ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

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

Адрес производителя: 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

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

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

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

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Взятие материала для выделения ДНК

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
Амниотическая жидкость	–	Взятие амниотической жидкости проводят в ходе процедуры амниоцентеза согласно утверждённому алгоритму проведения.	В сухой стерильный контейнер, снабженный герметично закручивающейся крышкой, помещают амниотическую жидкость в количестве не менее 500 мкл. После взятия материала контейнер плотно закрывают.
Бронхоальвеолярный лаваж Плевральная жидкость	–	Взятие бронхоальвеолярного лаважа проводят в ходе процедуры бронхоскопии согласно утвержденному алгоритму проведения. Взятие плевральной жидкости проводят в ходе процедуры плевроцентеза согласно утвержденному алгоритму проведения. Взятие материала производится в пустые одноразовые плотно закручивающиеся пробирки объемом до 50 мл.	В стерильные пробирки собирают бронхоальвеолярный лаваж, плевральную жидкость в количестве не менее 500 мкл. После взятия материала пробирки плотно закрывают.
Везикулярная жидкость Мазки/соскобы с поражений кожи, эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое Соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза Экссудаты	Местное применение лекарственных препаратов (спреи, капли, кремы и мази) – менее, чем за 24 часа до исследования.	Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения, согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре (например, Зонды медицинские по ТУ 9436-002-98349125-2016, ООО «Медицинские изделия», Россия, РУ № РЗН 2018/7058). Взятие материала проводится: – в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл, в которые предварительно внесено 300–500 мкл стерильного физиологического раствора; – в пробирки с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований. Особенности взятия материала с конъюнктивы глаза При наличии обильного гнойного отделяемого его убирают стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором. Отделяемое/соскоб берут с внутренней поверхности нижнего века движением к внутреннему углу глазной щели. При взятии соскоба необходимо придерживать веко руками, чтобы при моргании ресницы не касались зонда.	После взятия материала перенесите зонд в пробирку с физиологическим раствором или транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, и тщательно промойте его в жидкости в течение 10–15 с, избегая её разбрызгивания. Извлеките зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к внутренней стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки и утилизируйте. Плотнo закройте и промаркируйте пробирку.
Культуры микроорганизмов	–	Взятие культур микроорганизмов с жидких и плотных сред проводится в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5–2,0 мл, в которые предварительно внесено 500 мкл стерильного физиологического раствора.	При помощи одноразовой микробиологической петли, шпателя или пастеровской пипетки помещают в каждую пробирку одиночную колонию клеток или 100 мкл жидкой среды. После взятия материала пробирки плотно закрывают и маркируют.

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
Ликвор (спинномозговая жидкость)	–	Взятие спинномозговой жидкости (ликвора) проводится одноразовыми иглами в одноразовые пробирки объемом 1,5 мл согласно установленной процедуре.	В одноразовую пробирку собирают ликвор в количестве не менее 500 мкл. После взятия материала пробирки плотно закрывают и маркируют.
Мазки/соскобы из дыхательных путей Мазки и смывы с эндотрахеальных трубок	Местное применение лекарственных препаратов (спреи, капли, кремы и мази) менее чем за 24 часа до исследования. При использовании аэрозолей и других форм лекарственных препаратов для ингаляций при лечении бронхиальной астмы материал для исследований следует брать не ранее, чем через три часа после ингаляции.	Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения, согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре (например, Зонд медицинский одноразовый стерильный по ТУ 32.50.13-002-28731857-2020, ООО «ФармМедПолис РТ», Россия, РУ № РЗН 2021/13989). Взятие материала проводится: – в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл, в которые предварительно внесено 300–500 мкл стерильного физиологического раствора; – в пробирки с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований (рекомендуется СТОР-Ф). Особенности взятия соскобов/мазков из полости носа Зонд вводят лёгким движением по наружной стенки носа на глубину 2–3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Особенности взятия соскобов/мазков из ротоглотки Соскобы/мазки берут вращательным движением с поверхности миндалин, нёбных дужек и задней стенки глотки.	После взятия материала перенесите зонд в пробирку с физиологическим раствором или транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, и тщательно промойте его в жидкости в течение 10–15 с, избегая её разбрызгивания. Извлеките зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к внутренней стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки и утилизируйте. Плотнo закройте и промаркируйте пробирку.
Мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта	Использование ректальных свечей, слабительных препаратов, медикаментов, содержащих высокий процент железа – менее чем за 48 часов до исследования.	Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения, согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре (например, Зонды медицинские по ТУ 9436-002-98349125-2016, ООО «Медицинские изделия», Россия, РУ № РЗН 2018/7058). Взятие материала проводится: – в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл, в которые предварительно внесено 300–500 мкл стерильного физиологического раствора; – в пробирки с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований (рекомендуется СТОР-Ф).	После взятия материала перенесите зонд в пробирку с физиологическим раствором или транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, и тщательно промойте его в жидкости в течение 10–15 с, избегая её разбрызгивания. Извлеките зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к внутренней стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки и утилизируйте. Плотнo закройте и промаркируйте пробирку.

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
Мазки/соскобы (отделяемое) из уrogenитального тракта	Местное применение лекарственных препаратов, использование лубрикантов, УЗИ вагинальным датчиком, кольпоскопия – менее чем за 24 часа до исследования.	Взятие материала осуществляют с помощью специальных медицинских изделий, имеющих регистрационные удостоверения, согласно установленной в зависимости от источника биологического материала процедуре (например, Зонды урогенитальные одноразовые стерильные, «Цзянсу Яда Технолоджи Групп Ко., Лтд.», Китай, РУ № ФСЗ 2011/10587; Зонды медицинские по ТУ 9436-002-98349125-2016, ООО «Медицинские изделия», Россия, РУ № РЗН 2018/7058; Устройство для самостоятельного взятия пробы для лабораторной диагностики в гинекологии Qvintip (Квинтип), «Aprovix АВ», Швеция, РУ №РЗН 2019/8249; Устройство медицинское – Сваб-система Sorap, "Копан Италия С.п.А.", Италия, РУ № ФСЗ 2010/07660). Взятие материала проводится: – в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл, в которые предварительно внесено 300–500 мкл стерильного физиологического раствора; – в пробирки с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований (рекомендуется СТОР-Ф). Допускается использование сред для жидкостной цитологии. Взятие материала проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых сред. В случае использования устройств для самозабора материала взятие материала проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых устройств. Особенности взятия урогенитальных соскобов Женщины накануне обследования не должны проводить туалет половых органов и спринцевание. Для получения объективного результата необходимо, чтобы исследуемый материал содержал возможно большее количество эпителиальных клеток и минимальное количество слизи и примеси крови. Неправильное взятие биоматериала может привести к недостоверному результату и, вследствие этого, необходимости повторного взятия биоматериала. ВНИМАНИЕ! Перед получением соскоба эпителиальных клеток из уретры, с заднебокового свода влагалища и цервикального канала, свободно стекающее отделяемое необходимо удалить стерильным ватным тампоном. Особенности взятия материала из влагалища Материал должен быть взят до проведения мануального исследования. Зеркало перед манипуляцией можно смочить горячей водой, применение антисептиков для обработки зеркала противопоказано. Соскоб берут с заднебокового свода влагалища. У девочек взятие материала производят со слизистой оболочки преддверия влагалища, а в отдельных случаях – из заднего свода влагалища через гименальные кольца. Особенности взятия материала из уретры Перед взятием биоматериала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5–2 часов. Непосредственно перед взятием биоматериала необходимо обработать наружное отверстие уретры тампоном, который можно смочить стерильным физиологическим раствором. При наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15–20 минут после мочеиспускания, при отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия биоматериала. В уретру у женщин зонд вводится на глубину 1,0–1,5 см, у детей материал для исследования берут только с наружного отверстия уретры.	После взятия материала перенесите зонд в пробирку с физиологическим раствором или транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, и тщательно промойте его в жидкости в течение 10–15 с, избегая её разбрызгивания. Извлеките зонд из раствора и, вращательным движением прижимая его к внутренней стенке пробирки выше уровня раствора, отожмите избыток жидкости. Полностью удалите зонд из пробирки и утилизируйте. Плотнo закройте и промаркируйте пробирку.

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
		Особенности взятия материала из цервикального канала Перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором. Зонд вводят в цервикальный канал на глубину 0,5–1,5 см. При извлечении зонда необходимо полностью исключить его касание стенок влагалища. Особенности взятия материала с крайней плоти головки полового члена, препуциального мешка Перед взятием биоматериала пациенту рекомендуется воздержаться от мочеиспускания в течение 1,5–2 часов.	
Молоко	–	Взятие грудного молока проводится в стерильный контейнер, снабженный герметично закрывающейся крышкой. Срок сбора молока не более 24 часов. Хранение в течение всего срока сбора при температуре от 2 °С до 8 °С.	После окончания сбора молоко перемешивают и переносят в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 1,0 мл материала.
Мокрота	–	–	В одноразовый градуированный стерильный флакон с широким горлом и закручивающейся крышкой объемом не менее 50 мл собирают мокроту в количестве не менее 1,0 мл.
Моча	–	Взятие мочи проводится в сухой стерильный контейнер объемом до 60 мл, снабженный герметично закручивающейся крышкой. Особенности взятия остаточной мочи после массажа предстательной железы ВНИМАНИЕ! При подозрении на острый простатит выполнять массаж предстательной железы категорически запрещено! Перед взятием остаточной мочи после массажа предстательной железы рекомендуется половое воздержание в течение трёх суток до исследования. Пациент мочится в туалете, оставляя часть мочи в мочевом пузыре. Перед сбором мочи головку полового члена обрабатывают стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором. Пациенту проводят массаж предстательной железы в течение 1–3 минут. Интенсивность массажа зависит от консистенции предстательной железы: при мягкой предстательной железе осуществляют несильные надавливания, при плотной консистенции предстательной железы силу давления увеличивают.	Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве не менее 20–30 мл. После сбора мочи контейнер плотно закрывают и маркируют. Остаточная моча после массажа предстательной железы Сбор остаточной мочи осуществляется пациентом после окончания массажа. Взятие первой порции мочи проводится в сухой стерильный контейнер объемом до 60 мл, снабженный герметично закручивающейся крышкой в количестве 10–15 мл. После сбора материала контейнер плотно закрывают и маркируют.
Образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты)	–	Взятие материала проводится в пробирки с транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований.	В пробирки с транспортной средой помещают образцы диаметром не более 5,0 мм. После взятия материала пробирки плотно закрывают и маркируют.

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
Периферическая / пуповинная кровь	Внутривенные инъекции гепарина, инфузии препаратов для парентерального питания – менее чем за 6 часов до исследования.	–	Взятие крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с добавленной в качестве антикоагулянта солью ЭДТА. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия (если это не противоречит требованиям к ПЦР-набору реагентов, применяемому совместно с комплектом реагентов во всех вариантах исполнения). ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо плавно перевернуть пробирку не менее 3–5 раз.
Секрет предстательной железы	–	Перед взятием секрета предстательной железы рекомендуется половое воздержание в течение трех суток до исследования. Перед сбором материала головку полового члена обрабатывают стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором. Секрет предстательной железы собирают после предварительного массажа предстательной железы через прямую кишку. Массаж проводит врач посредством энергичного надавливающего движения от основания к верхушке железы. ВНИМАНИЕ! При подозрении на острый простатит выполнять массаж предстательной железы категорически запрещено!	Взятие выделившегося простатического секрета проводится после окончания массажа в одноразовую пробирку объёмом 2,0 мл или контейнер объёмом до 60 мл в виде свободно стекающей капли (0,15–1,0 мл). После сбора материала ёмкость с секретом предстательной железы плотно закрывают и маркируют.
Синовиальная жидкость Слюна	–	–	В стерильный контейнер собирают материал в количестве не менее 500 мкл. После сбора материала контейнер плотно закрывают и маркируют.
Смывы из ротоглотки и полости носа	–	Особенности взятия смывов из ротоглотки Перед взятием смывов из ротоглотки проводят предварительное полоскание полости рта водой. После этого проводят тщательное полоскание ротоглотки (в течение 10–15 с) 8,0–10 мл стерильного физиологического раствора. Жидкость собирают через воронку в стерильную пробирку. Не допускается повторное использование воронки без предварительного автоклавирования. Особенности взятия смывов из полости носа Взятие материала производят в положении больного сидя с отклонённой назад головой. Для получения смыва из полости носа в оба носовых хода поочередно с помощью зонда или одноразового шприца вводят по 3,0–5,0 мл тёплого стерильного физиологического раствора. Промывную жидкость из обоих носовых ходов собирают через воронку в одну стерильную пробирку. Не допускается повторное использование воронки без предварительного автоклавирования. При необходимости взятия биоматериала из нескольких биотопов повторите процедуру, каждый раз забирая материал в новую пробирку.	Перенесите 300 мкл собранной жидкости в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл. При взятии материала из нескольких биотопов необходимо переносить его в отдельные пробирки. Плотно закройте и промаркируйте пробирку.

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
Эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	–	–	Взятие материала производится в пустые одноразовые плотно закручивающиеся пробирки объемом 50 мл. После сбора материала пробирки плотно закрывают и маркируют. Для перемешивания материала необходимо перевернуть пробирку 3–5 раз.
Фекалии (меконий)	Приём энтеросорбентов менее чем за 2 дня до исследования.	Для анализа используют образцы фекалий или мекония массой (объемом) примерно 1–3 г (1–3 мл). Взятие материала проводится отдельным наконечником с фильтром или одноразовыми лопатками в сухой стерильный флакон.	В сухой стерильный флакон помещают фекалии (меконий) в количестве не менее 1,0 г. После взятия материала флакон плотно закрывают и маркируют.
Эякулят (сперма)	–	Перед взятием эякулята рекомендуется половое воздержание в течение трёх суток до исследования. Перед сбором эякулята пациент мочится в туалете, полностью опорожняя мочевой пузырь. После мочеиспускания пациент должен тщательно вымыть руки с мылом и провести туалет наружных половых органов с мылом и водой. Головку полового члена и крайнюю плоть необходимо высушить стерильной салфеткой. Эякулят получают путем мастурбации.	Взятие эякулята проводится в стерильный контейнер объемом до 60 мл, снабженный герметично закручивающейся крышкой. После взятия материала контейнер плотно закрывают и маркируют.

Таблица А.2 – Подготовка образцов биологического материала к выделению ДНК

Биоматериал	Порядок подготовки
Амниотическая жидкость	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). 4. Добавьте к осадку по 500 мкл стерильного физиологического раствора. 5. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Бронхоальвеолярный лаваж	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). 4. Добавьте к осадку по 500 мкл стерильного физиологического раствора. 5. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Везикулярная жидкость	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Ликвор (спинномозговая жидкость)	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). 4. Добавьте к осадку по 500 мкл стерильного физиологического раствора. 5. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Мазки/соскобы из дыхательных путей	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Мазки/соскобы с поражённых участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Мазки с эндотрахеальных трубок	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.

Биоматериал	Порядок подготовки	
Материал из влагилица, полученный с использованием устройства для самостоятельного забора проб	1. Добавьте в пробирку (или другую ёмкость, указанную в инструкции по применению устройства для самостоятельного забора проб, далее по тексту – пробирка), в которой находится наконечник устройства, 500 мкл стерильного физиологического раствора, закройте пробирку. 2. Встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 15 с. 3. Инкубируйте пробирку при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 3–5 минут. 4. Центрифугируйте пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с. 5. Извлеките наконечник устройства из пробирки и утилизируйте. 6. Перенесите содержимое пробирки в новую одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. 7. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 8. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.	
Мокрота	Способ 1 1. Перенесите в стерильную ёмкость примерно 500 мкл образца мокроты. 2. Добавьте к образцу равный объём 10% трехзамещённого фосфорнокислого натрия х 12Н₂О, плотно закройте и интенсивно встряхните. 3. Инкубируйте смесь при температуре 37 °С в течение 18–24 часов, затем нейтрализуйте 1 М НСl до рН 6,8–7,4. 4. Центрифугируйте при RCF(g) 900 в течение 20 мин. 5. Слейте надосадочную жидкость в ёмкость с 5,0% раствором хлорамина для обеззараживания. 6. Добавьте к осадку 500 мкл дистиллированной воды, перемешайте пипетированием и перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл. 7. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 8. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.	Способ 2 1. Добавьте во флакон с образцом мокроты муколизин в соотношении 5:1 (пять частей муколизина к одной части мокроты), ориентируясь по градуировке флакона. 2. Закройте флакон, встряхните содержимое и инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 20–30 мин, каждые 2–3 мин встряхивая флакон. Образец готов для выделения ДНК.
Молоко	Подготовка не требуется. Образец готов для выделения ДНК.	
Моча	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 1,0 мл мочи. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 3. Наиболее полно удалите надосадочную жидкость. 4. Добавьте к осадку 1,0 мл стерильного физиологического раствора. 5. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.	
Образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты)	1. Встряхните пробирку с биоматериалом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с. 2. Удалите надосадочную жидкость. Образец готов для выделения ДНК.	
Периферическая/пуповинная кровь (плазма крови)	1. Центрифугируйте пробирки с кровью при RCF(g) 800–1600 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 20 мин. 2. После центрифугирования отберите с помощью дозатора верхнюю фракцию (плазма) и перенесите в отдельную одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5–2,0 мл. Образец готов для выделения НК. ВНИМАНИЕ! 1. Время от момента взятия периферической крови до получения плазмы не должно превышать 6 часов. При необходимости плазму допускается хранить при температуре минус 20 °С не более 3 месяцев. 2. Перед выделением НК плазму необходимо перемешать!	

Биоматериал	Порядок подготовки
Периферическая/пуповинная кровь (лейкоциты крови)	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 2,0 мл 1,5 мл цельной крови. 2. Центрифугируйте пробирку с кровью при RCF(g) 50 в течение 10 мин. 3. После центрифугирования отберите с помощью дозатора 500–600 мкл верхней фракции (плазма с лейкоцитами) и перенесите в отдельную одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5–2,0 мл. 4. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 10000 в течение 10 мин. 5. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Плевральная жидкость	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). 4. Добавьте к осадку по 500 мкл стерильного физиологического раствора. 5. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Секрет предстательной железы	1. Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объемом 1,5 мл. 2. Внесите в каждую пробирку по 500 мкл стерильного физиологического раствора или транспортной среды, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований. 3. Перенесите в соответствующие пробирки по 100 мкл жидкого материала. 4. Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 5. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Синовиальная жидкость	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). 4. Добавьте к осадку по 500 мкл стерильного физиологического раствора. 5. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Слюна	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). 4. Добавьте к осадку по 500 мкл стерильного физиологического раствора. 5. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Смывы из ротоглотки и полости носа	1. Центрифугируйте пробирку с образцом смыва при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Смывы с эндотрахеальных трубок	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.
Соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.

Биоматериал	Порядок подготовки	
Фекалии (или меконий)	Приготовление суспензии 1. Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объемом 1,5 мл. 2. Внесите в каждую пробирку по 1,0 мл стерильного физиологического раствора. 3. Поместите в соответствующие промаркированные пробирки примерно по 0,1–0,2 г (мл) фекалий. 4. Тщательно ресуспендируйте содержимое пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 5–10 с. 5. Промаркируйте по одной одноразовой пробирке объемом 1,5 мл для каждого образца суспензии.	
	При выделении ДНК бактерий (получение бактериальной фракции): 6. Центрифугируйте пробирки с образцами суспензий фекалий при RCF(g) 13000 при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) в течение 30 с для осаждения дебриса на дно пробирки. 7. Внесите в соответствующие промаркированные пробирки среднюю фракцию из пробирок с суспензиями фекалий. Для этого отберите из каждой пробирки отдельным наконечником с фильтром бактериальную фракцию (верхняя бело-желтая часть образовавшегося осадка) в объеме 50 мкл. При отсутствии бело-желтого пограничного слоя между осадком и супернатантом отберите 50 мкл с границы осадка и супернатанта, допускается частичный захват осадка. Примечание – При необходимости возможна дополнительная предподготовка с использованием Набора реагентов для предобработки биоматериала лизоцимом при выделении ДНК (ПРОБА-Л), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/16776. Предподготовка проводится согласно инструкции по применению набора реагентов ПРОБА-Л.	При выделении ДНК вирусов (получение фекального экстракта): 6. Центрифугируйте пробирки с образцами суспензий фекалий при RCF(g) 10000 при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) в течение 5 мин. 7. Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 50 мкл надосадочной жидкости из пробирок с суспензиями фекалий.
	Образец готов для выделения ДНК.	
Экссудаты	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.	
Эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 1,0 мл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.	
Эякулят (сперма)	1. Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объемом 1,5 мл. 2. Внесите в каждую пробирку по 400–500 мкл стерильного физиологического раствора или транспортной среды, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований. 3. Перенесите в соответствующие промаркированные пробирки по 100 мкл жидкого материала. 4. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с. Образец готов для выделения ДНК.	
Культуры микроорганизмов, выделенных из биоматериала	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения ДНК.	