



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот

ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС

Регистрационный номер

ФСР 2010/08867 (ЕРУЛ Г004-00110-00/02936586) 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	5
2.3	Принцип метода	5
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	6
3.1	Минимальное количество биоматериала, из которого может производиться выделение нуклеиновых кислот	6
3.2	Функциональные характеристики комплекта реагентов.....	7
3.3	Интерферирующие вещества.....	7
3.4	Наборы реагентов, совместно с которыми может быть использован комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот.....	7
3.5	Эффективность комплекта реагентов.....	8
3.6	Воспроизводимость и повторяемость.....	8
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	8
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	10
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ	13
6.1	Материал для выделения нуклеиновых кислот	13
6.2	Общие требования.....	13
6.3	Взятие материала для выделения нуклеиновых кислот	14
6.4	Транспортирование и хранение образцов исследуемого материала.....	14
6.5	Подготовка исследуемого материала для выделения нуклеиновых кислот.....	16
7	ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ	17
7.1	Проведение выделения нуклеиновых кислот	17
7.2	Хранение и использование препарата нуклеиновых кислот.....	24
8	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ	25
8.1	Транспортирование	25
8.2	Хранение	25
8.3	Указания по эксплуатации	25
9	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	25
10	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	26
11	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	26
12	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ	26
13	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НОРМАТИВНЫХ ДОКУМЕНТОВ И НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	27
14	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	28
	ПРИЛОЖЕНИЕ А	29
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б	42
	ПРИЛОЖЕНИЕ В	46

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

PBS	- от англ. Phosphate buffered saline, фосфатно-солевой буфер
RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
ДИ	- доверительный интервал
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
ДНК-ВК	- внутренний контрольный образец (ДНК-ВК)
К–	- отрицательный контрольный образец
НК	- нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК)
ОТ	- обратная транскрипция
ОТ-ПЦР	- обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РНКазаы	- рибонуклеазы
РНК-ВК	- внутренний контрольный образец (РНК-ВК)

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование комплекта реагентов: Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС), далее по тексту – комплект реагентов.

1.2 Назначение: комплект реагентов предназначен для получения препарата ДНК/РНК из биологического материала (амниотическая жидкость, бронхоальвеолярный лаваж, везикулярная жидкость, желудочный сок, 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 (лейкоциты крови), периферическая/пуповинная кровь (плазма/сыворотка крови), плевральная жидкость, ректальные мазки, секрет предстательной железы, синовиальная жидкость, слюна, смывы из ротоглотки и полости носа, смывы с катетеров, смывы с эндотрахеальных трубок, соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза, фекалии (или меконий) нативные, фекалии (фекальные мазки), фиксированные в формалине парафинизированные образцы тканей опухолей, экссудаты, эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты, эякулят (сперма)), а также культур микроорганизмов, полученных из этого биоматериала, и иксодовых клещей для последующего анализа методом обратной транскрипции (РНК) и/или полимеразной цепной реакции (ДНК).

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

2.1 Состав комплекта реагентов

REF P-002/1, ПРОБА-НК			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество флаконов/пробирок	Номинальный объём компонента
Лизирующий раствор	Светло-голубая пенящаяся жидкость	1 флакон	30 мл
Реагент для преципитации	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	40 мл
Промывочный раствор №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	45 мл
Промывочный раствор №2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	30 мл
Буфер для растворения	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	30 мл
Отрицательный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 1,5 мл

REF P-002/2, ПРОБА-НК-ПЛЮС			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество флаконов/пробирок	Номинальный объём компонента
Лизирующий раствор	Светло-голубая пенящаяся жидкость	1 флакон	15 мл
Реагент для преципитации	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	20 мл
Промывочный раствор №1	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	22,5 мл
Промывочный раствор №2	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	15 мл
Буфер для растворения	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	15 мл
Отрицательный контрольный образец ¹	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	1,5 мл

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

Комплектность:

- Комплект реагентов в одном из вариантов исполнения – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 экз.
- Паспорт – 1 экз.

2.2 Количество анализируемых образцов

Комплект реагентов в варианте исполнения ПРОБА-НК рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 100 анализируемых образцов, включая контрольные образцы.

Комплект реагентов в варианте исполнения ПРОБА-НК-ПЛЮС рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 50 анализируемых образцов, включая контрольные образцы.

2.3 Принцип метода

Принцип метода основан на проведении лизиса и высвобождении нуклеиновых кислот под действием хаотропного агента (гуанидина тиоционата) с последующим спиртовым осаждением (преципитацией) и промывкой от примесей.

¹ – на этикетке компонента для всех вариантов исполнения «Отрицательный контрольный образец» указывается как «ОКО»

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Минимальное количество биоматериала, из которого может производиться выделение нуклеиновых кислот:

Биоматериал	Минимальное количество
Амниотическая жидкость	500 мкл
Бронхоальвеолярный лаваж	500 мкл
Везикулярная жидкость ¹	100 мкл
Желудочный сок	500 мкл
Ликвор (спинномозговая жидкость)	500 мкл
Мазки ¹ с эндотрахеальных трубок	100 мкл
Мазки/соскобы (отделяемое) ¹ из уrogenитального тракта	100 мкл
Мазки/соскобы ¹ из дыхательных путей	100 мкл
Мазки/соскобы ¹ из желудочно-кишечного тракта	100 мкл
Мазки/соскобы ¹ с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое	100 мкл
Мокрота (способ 1)	500 мкл
Мокрота (способ 2)	1,0 мл
Молоко	100 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 (лейкоциты крови)	100 мкл ²
Периферическая/пуповинная кровь (плазма/сыворотка крови)	100 мкл ²
Плевральная жидкость	500 мкл
Ректальные мазки ¹	100 мкл
Секрет предстательной железы	100 мкл
Синовиальная жидкость	500 мкл
Слюна	500 мкл
Смывы из ротоглотки и полости носа	300 мкл
Смывы с катетеров	100 мкл
Смывы с эндотрахеальных трубок	100 мкл
Соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) ¹ с конъюнктивы глаза	100 мкл
Фекалии (или меконий) нативные	100 мкл/мг
Фекалии (фекальные мазки) ¹	100 мкл
Фиксированные в формалине парафинизированные образцы тканей опухолей ³	2–4 парафиновых среза толщиной 5,0 мкм (приблизительная площадь среза 0,5–1,5 см ²)
Экссудаты ¹	100 мкл
Эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	1,0 мл
Эякулят (сперма)	100 мкл
Культуры микроорганизмов, выделенные из биоматериала ¹	100 мкл

Примечания к таблице:

¹ – взятые в Транспортную среду для биопроб СТОР-Ф, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640

² – полученные из 1,5 мл цельной крови

³ – предобработка с использованием набора реагентов ПРОБА-ПК

3.2 Функциональные характеристики комплекта реагентов:

- чистота образцов нуклеиновых кислот (A260/280) – 1,4–2,0;
- концентрация нуклеиновых кислот в препарате объёмом 50 мкл находится в интервале 5,0–200 нг/мкл раствора нуклеиновых кислот.

3.3 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых/недостоверных) 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, мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта, урогенитального тракта и дыхательных путей, моча, образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты), фекалии, эякулят (сперма)	Цельная кровь	1,0% v/v
Мазки/соскобы из урогенитального тракта и дыхательных путей, образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты), эякулят (сперма)	Слизь (муцин)	5,0% v/v
Экзогенные вещества		
Мазки/соскобы из дыхательных путей	Лазолван® РИНО, РИНОФЛУИМУЦИЛ®, Тизин® Классик, Спрей Тантум® Верде, Гексорал® Раствор, Беродуал®, Сальбутамол-Тева, Гриппферон® Капли назальные	5,0% v/v
Амниотическая жидкость, мазки/соскобы из дыхательных путей, желудочно-кишечного и урогенитального трактов, ликвор, молоко, моча, образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты), фекалии, эякулят (сперма)	Хлоргексидина биглюконат	5,0% v/v

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

Сведения о совместимости приведены в инструкциях по применению наборов/комплектов реагентов, предназначенных для анализа НК методом ПЦР/ОТ 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 при выделении ДНК составила 100% (95% ДИ: 99,45% – 100%).

Эффективность комплекта реагентов при выделении РНК составила 100% (95% ДИ: 97,30% – 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 набором реагентов допускается персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

Подготовку и проведение исследования биоматериала с использованием набора реагентов следует проводить в боксах биологической безопасности II класса с включённым ламинарным потоком.

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, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 мин.

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
	Тиоглицерол	H302, H311, H315, H317, H331
	Тритон X-100	H302, H315, H318, H400, H410
	Натриевая соль N-лауроилсаркозина	H315, H318, H330
Реагент для преципитации	Изопропанол	H225, H319, H336
Промывочный раствор №1	Изопропанол	H225, H319, H336
Промывочный раствор №2	Метилацетат	H225, H319, H336
Буфер для растворения	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Отрицательный контрольный образец	Азид натрия менее 0,1%	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Расшифровка обозначений: H225 – Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси; H302 – Вредно при проглатывании; H311 – Токсично при попадании на кожу; H312 – Вредно при контакте с кожей; H314: При попадании на кожу и глаза вызывает химические ожоги; H315 – Вызывает раздражение кожи; H317 – При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию; H318 – Вызывает серьезные повреждения глаз; H319 – Вызывает раздражение глаз; H330 – Смертельно при вдыхании; H331 – Токсично при вдыхании; H332 – Вредно при вдыхании; H336 – Может вызывать сонливость и головокружение; H400 – Чрезвычайно токсично для водных организмов; H410 – Чрезвычайно токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями; 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 65 °С;
- центрифуга для пробирок объёмом 1,5 мл, обеспечивающая RCF(g) от 12000;
- 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 объёмом 1,5 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз (рекомендуются пробирки с защёлкивающимися крышками, например, Eppendorf Safe-Lock Tubes);
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;

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

- дозаторы механические или электронные переменного объёма одноканальные, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 2,0 до 20 мкл, от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических дозаторов, свободные от ДНКа и РНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- штатив для дозаторов;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок 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-исследований¹ (при необходимости), рекомендуются²:
 - Транспортная среда для биопроб STOP-Ф по ТУ 21.20.23-101-46482062-2019, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640;
 - Транспортная среда для биопроб с муколитиком (STOP-M) по ТУ 21.20.23-102-46482062-2019, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2019/9453;
- Набор реагентов для стабилизации РНК в биопробах STOP-ЭКС по ТУ 9398-099-46482062-2017, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2018/7775;
- Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда для мазков» по ТУ 9398-088-01897593-2009, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, РУ №ФСР 2009/05515;
- Набор реагентов для транспортировки и хранения клинического материала (Транспортный раствор) по ТУ 9398-550-23548172-2016, АО «ВЕКТОР-БЕСТ», Россия, РУ №РЗН 2017/6004;
- Реагент для транспортировки и хранения клинического материала «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» по ТУ 9398-098-01897593-2009, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, РУ № ФСР 2009/05514.

Дополнительно для выделения нуклеиновых кислот из плазмы/сыворотки 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 – допускается использование следующих сред для жидкостной цитологии:

- PreservCyt®, Hologic Inc., США, РУ № ФСЗ 2012/11752;
- BD SurePath™ Liquid-Based Pap Test, "Бектон Дикинсон энд Компани", США, РУ № РЗН 2013/1335;
- CellPrep, CP Biodyne, Ю.Корея, РУ № ФСЗ 2010/07117;
- EASYPREP, YD Diagnostics, Ю.Корея, РУ № РЗН 2021/14717;
- Cell Preservative Solution, Human Lituo Biotechnology Co.Ltd, Китай, РУ № РЗН 2022/17203

² – возможность использования транспортной среды определяется видом биологического материала

Дополнительно для выделения нуклеиновых кислот 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 для выделения нуклеиновых кислот из искодовых клещей:

- пестики-гомогенизаторы для пробирок пластиковых вместимостью 1,5 мл;
- 96% этанол.

Дополнительно для выделения нуклеиновых кислот 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 для выделения нуклеиновых кислот 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 для выделения нуклеиновых кислот из биоптатов (при необходимости депротеинизации) и фиксированных в формалине парафинизированных образцов тканей опухолей; в случае использования сред для жидкостной цитологии (при необходимости):

- Набор реагентов для предобработки биоматериала при выделении нуклеиновых кислот (ПРОБА-ПК) по ТУ 21.20.23-107-46482062-2020, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ №РЗН 2021/14384.

Дополнительно для выделения нуклеиновых кислот из фекалий и бактериальных культур, полученных из этого биоматериала (при необходимости):

- 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;
- глицерин (при необходимости).

Дополнительно для выделения нуклеиновых кислот из фекальных мазков:

- центрифуга для пробирок объемом 1,5 мл, обеспечивающая RCF(g) 600;
- PBS (фосфатно-солевой буфер) (при необходимости).

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для выделения нуклеиновых кислот

Для выделения НК используют: периферическую/пуповинную кровь (плазма и сыворотка крови, лейкоциты крови), слюну, мокроту, молоко, мочу, эякулят (сперма), секрет предстательной железы, ликвор, мазки/соскобы из дыхательных путей, мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта, мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта, смывы из ротоглотки и полости носа, фекалии (или меконий) нативные и фекальные мазки, ректальные мазки, образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты), фиксированные в формалине парафинизированные образцы тканей опухолей, синовиальную жидкость, амниотическую жидкость, желудочный сок, экссудаты, бронхоальвеолярный лаваж, плевральную жидкость, эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты, соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза, мазки/соскобы с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое, везикулярную жидкость, смывы с катетеров, мазки и смывы с эндотрахеальных трубок, а также культуры микроорганизмов, полученные из этого биоматериала, и иксодовых клещей.

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.

В качестве биологического материала возможно использовать материал от падших и больных животных (при необходимости): мазки и смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки; фекалии; внутренние органы.

В качестве исследуемого материала возможно использование концентратов воды.

Примечание – Взятие, предварительная обработка, хранение исследуемого материала перед выделением приведены в Приложениях А, Б, В данной инструкции.

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 и выделении из него НК 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 из которой будете 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 нуклеиновых кислот

ВНИМАНИЕ! Перед выделением НК может потребоваться подготовка образцов исследуемого материала (6.5).

Взятие материала проводится в соответствии с таблицами А.1 (Приложение А), Б.3 (Приложение Б), Приложением В.

В случае если взятие образцов материала 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 исследуемого материала

Транспортирование и хранение образцов исследуемого материала проводится в соответствии с таблицами 1, Б.2 (Приложение Б), Приложением В.

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 нуклеиновых кислот

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	–
Желудочный сок	–	–	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	–
Ректальные мазки	–	не более 1 года	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 катетеров	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) нативные, фекальные мазки	–	–	не более 3 суток	не более 6 часов
Фиксированные в формалине парафинизированные образцы тканей ¹ опухолей	–	–	–	длительно
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 ² , выделенные из биоматериала	длительно	не более 7 суток	не более 24 часов	–
Клещи ³	–	–	не более 48 часов	–

Примечания к таблице:

¹ – не допускается плавление парафина

² – для бактериальных культур допускается многократное замораживание-оттаивание

³ – условия транспортирования и хранения приведены для живого клеща в увлажнённой среде

ВНИМАНИЕ! Цельную кровь нельзя замораживать!

6.5 Подготовка исследуемого материала для выделения нуклеиновых кислот

Подготовка образцов исследуемого материала проводится в соответствии с таблицами А.2 (Приложение А), Б.4 (Приложение Б), Приложением В.

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.

ВНИМАНИЕ! При работе с наборами реагентов для выявления нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека методом ОТ-ПЦР (ООО «ДНК-Технология ТС», Россия), подготовка образцов не требуется. Для выделения РНК используется 100 мкл биоматериала.

7 ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

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/реактива, 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 исследуемый материал, вносите раствор аккуратно, не касаясь стенок пробирки. При касании стенки пробирки смените наконечник.
6. Одновременно с выделением НК из исследуемого материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки. Для образцов биологического материала, взятых в транспортную среду или физиологический раствор, или подготовленных к выделению НК с использованием физиологического раствора/дистиллированной воды, для подготовки отрицательного контрольного образца рекомендуется применять используемую транспортную среду или физиологический раствор/дистиллированную воду.
Для остальных образцов рекомендуется использовать отрицательный контрольный образец (ОКО), входящий в состав комплекта реагентов.
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 65 °С.
9. В лизирующем растворе допускается выпадение осадка. В случае выпадения осадка необходимо прогреть флакон с лизирующим раствором на термостате при температуре 65 °С до полного растворения осадка. Затем следует перемешать раствор 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.
10. При прогревании пробирок с образцами возможно открывание крышек! Следует использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат твердотельный программируемый ДТтерм производства ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

7.1 Проведение выделения нуклеиновых кислот

Подготовка и проведение выделения НК с использованием комплекта реагентов ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС производится в зависимости от материала и применяемой методики (таблицы 2 и Б.5 (Приложение Б), Приложение В):

Таблица 2 – Методики выделения в зависимости от используемого биоматериала

Биоматериал	Наименование методики выделения	Пункт инструкции
Амниотическая жидкость	Стандартная	7.1.1
Бронхоальвеолярный лаваж	Стандартная	7.1.1
Везикулярная жидкость	Стандартная	7.1.1
Желудочный сок	Стандартная	7.1.1
Иксодовые клещи	Из иксодовых клещей	7.1.4
Ликвор (спинномозговая жидкость)	Стандартная	7.1.1
Мазки/соскобы из дыхательных путей	Стандартная	7.1.1
	Сокращённая	7.1.2
Мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта	Стандартная	7.1.1
	Сокращённая	7.1.2
Мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта	Стандартная	7.1.1
	Сокращённая	7.1.2
Мазки/соскобы с пораженных участков кожи и эрозивно-язвенных элементов, раневое отделяемое	Стандартная	7.1.1
Мазки с эндотрахеальных трубок	Стандартная	7.1.1
Мокрота	Стандартная	7.1.1
Молоко	Стандартная	7.1.1
Моча	Стандартная	7.1.1
Образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты)	Из биоптатов и аналогичных видов биологического материала	7.1.3
Образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты) – после предобработки ПРОБА-ПК	Стандартная	7.1.1
Периферическая/пуповинная кровь (плазма/сыворотка крови)	Стандартная	7.1.1
Периферическая/пуповинная кровь (лейкоциты крови)	Стандартная	7.1.1
Плевральная жидкость	Стандартная	7.1.1
Ректальные мазки	Стандартная	7.1.1
	Сокращённая	7.1.2
Секрет предстательной железы	Стандартная	7.1.1
Синовиальная жидкость	Стандартная	7.1.1
Слюна	Стандартная	7.1.1
Смывы из ротоглотки и полости носа	Стандартная	7.1.1
Смывы с катетеров	Из биоптатов и аналогичных видов биологического материала	7.1.3
Смывы с эндотрахеальных трубок	Стандартная	7.1.1
Соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза	Стандартная	7.1.1
Фиксированные в формалине парафинизированные образцы тканей опухолей после предобработки ПРОБА-ПК	Стандартная	7.1.1
Фекалии (или меконий) нативные, фекальные мазки	Стандартная	7.1.1
	Сокращённая	7.1.2
Экссудаты	Стандартная	7.1.1
Эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	Стандартная	7.1.1
Эякулят (сперма)	Стандартная	7.1.1
	Сокращённая	7.1.2
Культуры микроорганизмов, выделенных из биоматериала	Стандартная	7.1.1

7.1.1 Стандартная методика выделения нуклеиновых кислот из биологического материала

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

Примечание – Для образцов, прошедших предобработку с получением осадка и надосадочной жидкости (таблицы А.2, Б.4), маркируются пробирки с подготовленным для исследования материалом в объёме 100 мкл.

7.1.1.2 В случае если использование внутреннего контрольного образца предусмотрено инструкцией по применению набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР, внесите во все промаркированные пробирки соответствующее количество внутреннего контрольного образца согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР. Закройте пробирки.

7.1.1.3 Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки.

7.1.1.4 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 100 мкл исследуемого материала (за исключением пробирок с образцами, прошедшими предобработку с получением осадка (таблицы А.2, Б.4), и пробирки «К-»).

7.1.1.5 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 100 мкл транспортной среды, стерильного физиологического раствора или отрицательного контрольного образца, входящего в состав комплекта реагентов (см. 7).

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

7.1.1.7 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 15 мин.

7.1.1.8 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 30 с.

7.1.1.9 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.1.1.10 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 15 мин.

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

7.1.1.12 Добавьте к осадку по 450 мкл промывочного раствора №1, плотно закройте пробирки и перемешайте содержимое, аккуратно перевернув пробирки 3–5 раз.

7.1.1.13 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 5 мин.

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

7.1.1.15 Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, плотно закройте пробирки и перемешайте содержимое, аккуратно перевернув пробирки 3–5 раз.

7.1.1.16 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 5 мин.

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

7.1.1.18 Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.

7.1.1.19 Добавьте к осадку необходимый объём буфера для растворения.

Объём буфера для растворения зависит от следующих параметров:

- тип исследования (одиночное или комплексное);
- количество исследований, которые будут проведены из одного образца НК.

Пример:

Тип исследования	Объём буфера для растворения, мкл
Наборы реагентов для выявления ДНК методом ПЦР в режиме реального времени (ООО «ДНК-Технология ТС», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)	50
Наборы реагентов для выявления нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека методом ОТ-ПЦР (ООО «ДНК-Технология ТС», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)	100
Комплексные исследования (например, наборы реагентов линейек Фемофлор®, Андрофлор®, HPV квант-21 в фасовке S)	300

7.1.1.20 Плотно закройте пробирки и осадите капли центрифугированием пробирок в течение 3–5 с.

7.1.1.21 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 10 мин. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.

7.1.1.22 Осадите конденсат центрифугированием при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 30 с.

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР.

7.1.2 Сокращённая методика выделения нуклеиновых кислот из биологического материала¹

7.1.2.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объёмом 1,5 мл (с защёлкивающимися крышками, если необходимо) с учетом пробирки для отрицательного контрольного образца (К–).

Примечание – Для образцов, прошедших предобработку с получением осадка и надосадочной жидкости (таблица А.2), маркируются пробирки с подготовленным для исследования материалом в объёме 100 мкл.

7.1.2.2 В случае если использование внутреннего контрольного образца предусмотрено инструкцией по применению набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР, внесите во все промаркированные пробирки соответствующее количество внутреннего контрольного образца согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР. Закройте пробирки.

7.1.2.3 Добавьте в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки.

¹ – виды биоматериала приведены в таблице 2

- 7.1.2.4 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 100 мкл исследуемого материала (за исключением пробирок с образцами, прошедшими предобработку с получением осадка (таблица А.2), и пробирки «К-»).
- 7.1.2.5 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 100 мкл транспортной среды или стерильного физиологического раствора (см. 7).
- 7.1.2.6 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.2.7 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин, центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.2.8 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.2.9 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 10 мин.
- 7.1.2.10 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.2.11 Добавьте к осадку по 450 мкл промывочного раствора №1, закройте крышки пробирок и перемешайте содержимое, аккуратно перевернув пробирки 3–5 раз.
- 7.1.2.12 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 1 мин.
- 7.1.2.13 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.2.14 Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, плотно закройте пробирки и перемешайте содержимое, аккуратно перевернув пробирки 3–5 раз.
- 7.1.2.15 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 1 мин.
- 7.1.2.16 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки) Допускается оставить жидкость, покрывающую осадок, объемом не более 20–30 мкл.
- 7.1.2.17 Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
- 7.1.2.18 Добавьте к осадку необходимый объем буфера для растворения.

Объем буфера для растворения зависит от следующих параметров:

- тип исследования (одиночное или комплексное);
- количество исследований, которые будут проведены из одного образца НК.

Пример :

Тип исследования	Объем буфера для растворения, мкл
Наборы реагентов для выявления ДНК методом ПЦР в режиме реального времени (ООО «ДНК-Технология ТС», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)	50
Наборы реагентов для выявления нуклеиновых кислот возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека методом ОТ-ПЦР (ООО «ДНК-Технология ТС», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)	100
Комплексные исследования (например, наборы реагентов линейек Фемофлор®, Андрофлор®, HPV квант-21 в фасовке S)	300

7.1.2.19 Плотнo закройте пробирки и осадите капли центрифугированием пробирок в течение 3–5 с.

7.1.2.20 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 5 мин. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с.

7.1.2.21 Осадите конденсат центрифугированием при RCF(g) 12000–16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 30 с.

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР.

7.1.3 Методика выделения нуклеиновых кислот из биоптатов и аналогичных видов биологического материала; из смывов с катетеров

7.1.3.1 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объёмом 1,5 мл для каждого неизвестного образца и отрицательного контрольного образца (К–).

7.1.3.2 Добавьте в пробирки с подготовленными образцами (таблицы А.2, Б.4) и в пробирку «К–» по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирок.

7.1.3.3 Внесите в пробирку, промаркированную «К–», 100 мкл транспортной среды или стерильного физиологического раствора/дистиллированной воды (см. 7).

7.1.3.4 Плотнo закройте пробирки, встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с.

7.1.3.5 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С согласно таблице 3.

Таблица 3

Биологический материал	Время термостатирования, мин
Образцы тканей (биопсийный (в т.ч. аутопсийный), хирургический материал, пунктаты) Внутренние органы животных	30
Смывы с катетеров	15

7.1.3.6 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с.

7.1.3.7 Перенесите в соответствующие промаркированные пробирки для неизвестных образцов надосадочную жидкость. Для пробирки «К–» переносить надосадочную жидкость не требуется.

7.1.3.8 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, не касаясь края пробирки, закройте пробирки и встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортeксе в течение 3–5 с.

7.1.3.9 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 15 мин.

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

7.1.3.11 Добавьте к осадку по 450 мкл промывочного раствора №1, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки и аккуратно переверните пробирки 3–5 раз.

7.1.3.12 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 5 мин.

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

- 7.1.3.14 Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки и аккуратно переверните пробирки 3–5 раз.
- 7.1.3.15 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 5 мин.
- 7.1.3.16 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.3.17 Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
- 7.1.3.18 Добавьте к осадку по 50 мкл буфера для растворения, плотно закройте пробирки.
- 7.1.3.19 Осадите капли центрифугированием пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.1.3.20 Термостатируйте пробирки при 65 °С в течение 10 мин. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.3.21 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 30 с.

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР.

- 7.1.4 Методика выделения нуклеиновых кислот из иксовых клещей
 - 7.1.4.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объёмом 1,5 мл (с защёлкивающимися крышками, если необходимо) с учётом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).
 - 7.1.4.2 Добавьте в каждую пробирку с подготовленным иксовым клещом (см. таблицу А.2) и в пробирку «К-» по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирок.
 - 7.1.4.3 Внесите в пробирку, промаркированную «К-», 100 мкл отрицательного контрольного образца.
 - 7.1.4.4 Плотно закройте пробирки, встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 - 7.1.4.5 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение одного часа, центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 - 7.1.4.6 Разотрите клеща пестиком-гомогенизатором (отдельным пестиком для каждой пробирки).
 - 7.1.4.7 Плотно закройте пробирки, встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 - 7.1.4.8 Перенесите в соответствующие промаркированные пробирки для неизвестных образцов надосадочную жидкость. Для пробирки «К-» переносить надосадочную жидкость не требуется.
 - 7.1.4.9 Добавьте в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки и встряхните на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
 - 7.1.4.10 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 15 мин.
 - 7.1.4.11 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
 - 7.1.4.12 Добавьте к осадку по 450 мкл промывочного раствора №1, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки и аккуратно переверните пробирки 3–5 раз.

- 7.1.4.13 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 5 мин.
- 7.1.4.14 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.4.15 Добавьте к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, не касаясь края пробирки, плотно закройте пробирки и аккуратно переверните пробирки 3–5 раз.
- 7.1.4.16 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 5 мин.
- 7.1.4.17 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником из каждой пробирки).
- 7.1.4.18 Откройте пробирки и высушите осадок при температуре 65 °С в течение 5 мин.
- 7.1.4.19 Добавьте к осадку по 50 мкл буфера для растворения, плотно закройте пробирки.
- 7.1.4.20 Осадите капли центрифугированием пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с
- 7.1.4.21 Термостатируйте пробирки при температуре 65 °С в течение 10 мин. Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с.
- 7.1.4.22 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000–16000 в течение 30 с.

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР.

7.2 Хранение и использование препарата нуклеиновых кислот

- 7.2.1 Допускается хранение препарата НК при температуре от 2 °С до 8 °С не более двух часов. Для длительного хранения препарат НК следует поместить в морозильную камеру и хранить при температуре не выше минус 18 °С не более 7 суток, не размораживая до постановки.
- 7.2.2 Если предполагается только исследование ДНК методом ПЦР, допускается хранение препарата НК при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более одного месяца или при температуре от минус 72 °С до минус 68 °С не более одного года.

ВНИМАНИЕ! Для препарата НК допускается только однократное размораживание!

- 7.2.3 Если препарат НК хранился при температуре не выше минус 18 °С, перед его использованием для постановки ПЦР/ОТ-ПЦР необходимо разморозить препарат НК и отрицательный контрольный образец при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С.
- 7.2.4 Перед использованием препарата НК для постановки ПЦР/ОТ-ПЦР после хранения и/или размораживания необходимо встряхнуть пробирки с препаратом НК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

8 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

8.1 Транспортирование

- 8.1.1 Транспортирование комплекта реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав комплекта реагентов.
- 8.1.2 Комплект реагентов следует транспортировать в правильном положении в соответствии с манипуляционным знаком/надписью «ВЕРХ».
- 8.1.3 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 °C до 25 °C в течение всего срока годности комплекта реагентов.
Лизирующий раствор следует хранить в защищённом от света месте.
- 8.2.2 При хранении допускается выпадение небольшого осадка в лизирующем растворе.
- 8.2.3 Комплект реагентов следует хранить в правильном положении в соответствии с манипуляционным знаком/надписью «ВЕРХ».
- 8.2.4 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 все компоненты комплекта реагентов следует хранить при температуре от 2 °C до 25 °C в течение всего срока годности комплекта реагентов.
Лизирующий раствор следует хранить в защищённом от света месте.
- 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 9398-035-46482062-2009 Комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС)

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 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 нуклеиновых кислот

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 заворачивающейся 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 заворачивающиеся 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, в вариантах исполнения: 1. Зонд тип А универсальный: – тип А1, производство 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. Плотно закройте и промаркируйте пробирку.
Желудочный сок	–	Взятие желудочного сока проводят в ходе процедуры гастроскопии согласно утвержденному алгоритму проведения.	В стерильный контейнер собирают желудочный сок в количестве не менее 500 мкл. После взятия материала контейнер плотно закрывают.
Иксодовые клещи	–	–	Положите в чистую ёмкость с герметично закрывающейся крышкой кусок влажной ткани или смоченную водой салфетку (для предотвращения высыхания клеща). Поместите в ёмкость живого клеща.

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
Культуры микроорганизмов	–	Взятие культур микроорганизмов с жидких и плотных сред проводится в одноразовые пластиковые пробирки объёмом 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.
Ликвор (спинномозговая жидкость)	–	Взятие спинномозговой жидкости (ликвора) проводится одноразовыми иглами в одноразовые пробирки объёмом 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 и смывы с эндотрахеальных трубок	–	Взятие материала осуществляют с поверхности эндотрахеальной трубки 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 тип А5, ООО «Медицинские изделия», Россия, РУ № РЗН 2018/7058). Взятие материала проводится: – в одноразовые пластиковые пробирки объёмом 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.
Мазки/соскобы из дыхательных путей	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 РТ", Россия, РУ № РЗН 2021/13989). Взятие материала проводится: – в одноразовые пластиковые пробирки объёмом 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 стенке 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.

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
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, в вариантах исполнения: 1. Зонд тип А универсальный: – тип А1, производство, 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.
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, в вариантах исполнения: 1. Зонд тип А универсальный: – тип А1, производство, ООО «Медицинские изделия», Россия, РУ № РЗН 2018/7058; Устройство для самостоятельного взятия пробы для лабораторной диагностики в гинекологии Qvintip (Квинтип), «Aprox AV», Швеция, РУ №РЗН 2019/8249; Устройство медицинское – Сваб-система Soran, "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.	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 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. 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 простаты ВНИМАНИЕ! При подозрении на острый простатит выполнять массаж простаты категорически запрещено! Перед взятием остаточной мочи после массажа простаты 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 простаты: при мягкой предстательной железе осуществляют несильные надавливания, при плотной консистенции простаты 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 простаты 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.

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
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. Допускается использование сред для жидкостной цитологии. Взятие материала проводится в соответствии с инструкциями по применению используемых сред.	В пробирки с транспортной средой помещают образцы диаметром не более 5,0 мм. После взятия материала пробирки плотно закрывают и маркируют.
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. Допускается использование пробирок с активатором образования сгустка и разделительным гелем.
Ректальные мазки ¹	–	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 тип А5, ООО «Медицинские изделия», Россия, РУ № РЗН 2018/7058). Взятие материала проводится: – в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл, в которые предварительно внесено 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); – в пробирки с PBS (фосфатно-солевым буфером).	После взятия материала перенесите зонд в пробирку с физиологическим раствором, транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, или PBS, 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. Плотно закройте и промаркируйте пробирку.

¹ – взятие проводится согласно методическим рекомендациям «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2021 г.)

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
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 объемом 2,0 мл или контейнер объемом до 60 мл в виде свободно стекающей капли (0,15–1,0 мл). После сбора материала ёмкость с секретом простаты 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 объемом 1,5 мл. При взятии материала из нескольких биотопов необходимо переносить его в отдельные пробирки. Плотно закройте и промаркируйте пробирку.
Смывы с фрагментов катетера	–	Смывы с катетера получают в лаборатории в ходе обработки материала.	Отрежьте стерильными ножницами 5–10 мм кончика катетера, поместите его в одноразовую пустую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл. Плотно закройте и промаркируйте пробирку.
Эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	–	–	Взятие материала производится в пустые одноразовые плотно завинчивающиеся пробирки объемом 50 мл. После сбора материала пробирки плотно закрывают и маркируют. Для перемешивания материала необходимо перевернуть пробирку 3–5 раз.
Фекалии (меконий) нативные	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.

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
Фекалии (фекальные мазки) ¹	Приём энтеросорбентов менее чем за 2 дня 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 объёмом 1,5 мл, в которые предварительно внесено 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); – в пробирки с PBS (фосфатно-солевым буфером).	После взятия материала перенесите зонд в пробирку с физиологическим раствором, транспортной средой, предназначенной производителем для транспортирования и хранения образцов биологического материала для ПЦР-исследований, или PBS, 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.
Фиксированные в формалине парафинизированные образцы тканей опухолей	–	Взятие материала осуществляется только врачом-патоморфологом. Для приготовления срезов используют чистое, острое лезвие микротомы, отрезают 2 участка толщиной 10 мкн или 3–5 участка толщиной 5 мкн из предварительно обрезанного блока ткани, заключенной в парафин (приблизительная площадь среза 0,5–1,5 см²). Парафиновые срезы помещают в одноразовые пластиковые пробирки объёмом 1,5 мл. Не следует превышать рекомендуемое количество ткани, т.к. избыток ткани, заключенной в парафин, может снизить выход тотальной НК.	В пробирку помещают 2–4 парафиновых среза толщиной 5,0 мкн (приблизительная площадь среза 0,5–1,5 см²). После взятия материала пробирку 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 мочевого 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 объёмом до 60 мл, снабжённый герметично закручивающейся крышкой. После взятия материала контейнер плотно закрывают и маркируют.

¹ – взятие проводится согласно методическим рекомендациям «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики» (ФГУН ЦНИИЗ Роспотребнадзора, Москва, 2021 г.)

Таблица А.2 – Подготовка образцов биологического материала к выделению нуклеиновых кислот

Биоматериал	Порядок предподготовки
Амниотическая жидкость	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 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) 12000–16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Бронхоальвеолярный лаваж	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 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) 12000–16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Везикулярная жидкость	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Желудочный сок	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл 500 мкл желудочного сока. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Иксодовые клещи	1. Поместите клеща в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл. 2. Добавьте в пробирку с клещом 1,0 мл 96% этанола, встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с. 3. Наиболее полно удалите надосадочную жидкость. 4. Добавьте в пробирку 1,0 мл стерильного физиологического раствора, встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с. 5. Наиболее полно удалите надосадочную жидкость. Образец готов для выделения НК. ВНИМАНИЕ! Подготовленный материал необходимо сразу использовать для выделения НК.
Ликвор (спинномозговая жидкость)	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 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) 12000–16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Мазки/соскобы из дыхательных путей	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Мазки/соскобы из желудочно-кишечного тракта	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.

Биоматериал	Порядок предподготовки	
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) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.	
Мазки/соскобы (отделяемое) из урогенитального тракта	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК. В случае использования сред для жидкостной цитологии PreservCyt®; CellPrep, EASYPREP: 1. Тщательно перемешайте содержимое виалы с образцом в транспортной среде (растворе), интенсивно встряхнув виалу. 2. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл 1,0 мл материала. Плотно закройте пробирку. 3. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 в течение 3 мин. 4. Максимально полно удалите надосадочную жидкость. 5. Добавьте к осадку 100 мкл транспортной среды СТОР-Ф или стерильного физиологического раствора и ресуспендируйте осадок пипетированием. Образец готов для выделения НК. В случае использования сред для жидкостной цитологии BD SurePath™ Liquid-Based Pap Test, Cell Preservative Solution подготовка проводится с использованием Набора реагентов для предобработки биоматериала при выделении нуклеиновых кислот (ПРОБА-ПК), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/14384 согласно инструкции по применению набора реагентов ПРОБА-ПК.	
Мазки с эндотрахеальных трубок	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.	
Материал из влагиалища, 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 в течение 3–5 минут при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С). 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 объёмом 1,5 мл. 7. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 16000 в течение 10 мин. 8. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.	
Мокрота	Способ 1 1. Перенесите в стерильную ёмкость примерно 500 мкл образца мокроты. 2. Добавьте к образцу равный объём 10% трехзамещённого фосфорнокислого натрия х 12Н ₂ О, плотно закройте и интенсивно встряхните. 3. Инкубируйте смесь при температуре 37 °С в течение 18–24 часов, затем нейтрализуйте 1,0 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% раствором хлорамина для обеззараживания. 6. Добавьте к осадку 500 мкл дистиллированной воды, перемешайте пипетированием и перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл. 7. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 8. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.	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 НК.

Биоматериал	Порядок предподготовки
Молоко	Подготовка не требуется. Образец готов для выделения НК.
Моча	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл 1,0 мл мочи. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 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) 12000–16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
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 НК. В случае использования сред для жидкостной цитологии и при необходимости депротеинизации подготовка проводится с использованием Набора реагентов для предобработки биоматериала при выделении нуклеиновых кислот (ПРОБА-ПК), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/14384 согласно инструкции по применению набора реагентов ПРОБА-ПК.ДНК.
Периферическая / пуповинная кровь (плазма/сыворотка 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/сыворотка) и перенесите в отдельную одноразовую пластиковую пробирку объёмом 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! 3. В случае использования пробирок с разделительным гелем повторное центрифугирование запрещено во избежание повреждения геля и загрязнения образца продуктами гемолиза. 4. Избегайте попадания разделительного геля в образец сыворотки, так как он может вызвать ингибирование ПЦР/ОТ-ПЦР.
Периферическая / пуповинная кровь (лейкоциты крови) ¹	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 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 объёмом 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 НК.
Плевральная жидкость	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 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) 12000–16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.

¹ – подготовка проводится согласно методическим рекомендациям «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2021 г.)

Биоматериал	Порядок предподготовки
Ректальные мазки	Подготовка не требуется. Образец готов для выделения НК.
Секрет простаты (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) 12000–16000 в течение 10 мин. 5. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Синовиальная жидкость	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 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) 12000–16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Слюна	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 500 мкл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 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) 12000–16000 в течение 10 мин. 6. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Смывы из ротоглотки и полости носа	1. Центрифугируйте пробирку с образцом смыва при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Смывы с катетеров	1. Добавьте в пробирку с фрагментом катетера 100 мкл дистиллированной воды или 100 мкл стерильного физиологического раствора. 2. Встряхните пробирку с фрагментом катетера на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с. Образец готов для выделения НК.
Смывы с эндотрахеальных трубок	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Соскобы эпителиальных клеток (отделяемое) с конъюнктивы глаза	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.
Фиксированные в формалине парафинизированные образцы тканей опухолей	Предподготовка парафинизированной ткани проводится с использованием Набора реагентов для предобработки биоматериала при выделении нуклеиновых кислот (ПРОБА-ПК), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2021/14384 согласно инструкции по применению набора реагентов ПРОБА-ПК.

Биоматериал	Порядок предподготовки	
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 нуклеиновых кислот бактерий (получение бактериальной фракции): 6. Центрифугируйте пробирки с образцами суспензий фекалий при RCF(g) 13000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) 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-жёлтая часть образовавшегося осадка) в объёме 100 мкл. При отсутствии бело-жёлтого пограничного слоя между осадком и супернатантом отберите 100 мкл с границы осадка и супернатанта, допускается частичный захват осадка. П р и м е ч а н и е – 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 нуклеиновых кислот вирусов (получение фекального экстракта): 6. Центрифугируйте пробирки с образцами суспензий фекалий при RCF(g) 10000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 5 мин. 7. Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 100 мкл надосадочной жидкости из пробирок с суспензиями фекалий.
	Образец готов для выделения НК. ВНИМАНИЕ! При невозможности исследования материала в течение 3 суток и/или необходимости длительного хранения: 1. Приготовьте смесь глицерина и физиологического раствора (8,0–10 мл 100% глицерина доведите до 50 мл стерильным физиологическим раствором; конечная концентрация глицерина в смеси 15–20%). 2. Аликвотируйте в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл полученную смесь по 1,0 мл. 3. Перенесите в пробирки с полученной смесью образцы фекалий размером с горошину из первичного флакона, тщательно ресуспендируйте. Подготовленные таким образом образцы замораживают только после тщательной гомогенизации и экспозиции с глицерином в течение 30–40 минут.	
Фекалии (фекальный мазок) ¹	Тщательно перемешайте содержимое пробирки на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте при RCF(g) 600 в течение 5 мин. Образец готов для выделения НК.	
Экссудаты	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.	
Эндотрахеальный и назофарингеальный аспираты	1. Перенесите в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл 1,0 мл материала. 2. Центрифугируйте пробирку при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 3. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.	

¹ – подготовка проводится согласно методическим рекомендациям «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2021 г.)

Биоматериал	Порядок предподготовки
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 пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с. Образец готов для выделения НК.
Культуры микроорганизмов, выделенных из биоматериала	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Выделение нуклеиновых кислот из материала от падших и больных животных

В качестве биологического материала возможно использовать материал от падших и больных животных (при необходимости): мазки и смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки; фекалии; внутренние органы.

Таблица Б.1 – Минимальное количество биоматериала, из которого может производиться выделение нуклеиновых кислот

Биоматериал	Минимальное количество
Внутренние органы	250 мг
Мазки и смывы ¹ из трахеи, полости носа, глотки, клоаки	100 мкл
Фекалии	250 мг
¹ – взятые в Транспортную среду для биопроб СТОР-Ф, ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2020/9640	

Таблица Б.2 – Условия транспортирование и хранения образцов биологического материала перед выделением нуклеиновых кислот

Биоматериал	Температура хранения	Время хранения
Внутренние органы	от 2 °С до 8 °С	не более 24 часов
Мазки и смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки	от 2 °С до 8 °С	не более 24 часов
Фекалии	от 2 °С до 8 °С	не более 24 часов

Таблица Б.3 – Взятие материала для выделения нуклеиновых кислот

Биоматериал	Ограничение метода	Особенности взятия	Порядок взятия
Внутренние органы животных	–	–	В сухой стерильный контейнер помещают внутренние органы (фрагменты трахеи и легких, селезёнку, мозг, печень и др.). После взятия материала контейнер плотно закрывают и маркируют.
Мазки и смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки	Местное применение лекарственных препаратов менее чем за 24 часа до исследования.	Взятие материала осуществляют стерильным зондом, предназначенным для данного источника биологического материала.	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. Плотно закройте и промаркируйте пробирку.
Фекалии животных	Применение энтеросорбентов менее чем за 2 дня до исследования.	Образцы фекалий отбирают рукой в резиновой перчатке из прямой кишки животного или из только что выделившихся при испражнении фекалий. В последнем случае снимают верхнюю часть экскрементов, не соприкасавшуюся с полом или почвой. Всякий раз после взятия образца фекалий перчатку меняют.	В сухой стерильный контейнер помещают фекалии животных в количестве 4–5 г. После взятия материала контейнер плотно закрывают и маркируют.

Таблица Б.4 – Подготовка образцов биологического материала к выделению нуклеиновых кислот

Биоматериал	Порядок предподготовки	
Внутренние органы	1. Поместите ~250 мг исследуемого материала в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл. 2. Добавьте в пробирку с образцом 1,0 мл стерильного физиологического раствора. 3. Встряхните пробирку на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с. 4. Удалите надосадочную жидкость. Образец готов для выделения НК.	
Мазки/смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки	1. Центрифугируйте пробирку с образцом в физиологическом растворе/транспортной среде при RCF(g) 12000–16000 в течение 10 мин. 2. Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция). Образец готов для выделения НК.	
Фекалии	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 нуклеиновых кислот бактерий (получение бактериальной фракции): 6. Центрифугируйте пробирки с образцами суспензий фекалий при RCF(g) 13000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) 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-жёлтая часть образовавшегося осадка) в объеме 100 мкл. При отсутствии бело-жёлтого пограничного слоя между осадком и супернатантом отберите 100 мкл с границы осадка и супернатанта, допускается частичный захват осадка.	При выделении нуклеиновых кислот вирусов (получение фекального экстракта): 6. Центрифугируйте пробирки с образцами суспензий фекалий при RCF(g) 10000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 5 мин. 7. Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 100 мкл надосадочной жидкости из пробирок с суспензиями фекалий.
	Образец готов для выделения НК.	

Проведение выделения нуклеиновых кислот с использованием комплекта реагентов ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС производится согласно таблице Б.5 в зависимости от биоматериала и применяемой методики.

Т а б л и ц а Б . 5 – Методики выделения в зависимости от используемого биоматериала

Биоматериал	Наименование методики выделения	Пункт инструкции
Внутренние органы	Из биоптатов и аналогичных видов биологического материала	7.1.3
Мазки и смывы из трахеи, полости носа, глотки, клоаки	Стандартная	7.1.1
Фекалии	Стандартная	7.1.1

ПРИЛОЖЕНИЕ В**Выделение нуклеиновых кислот из концентратов воды**

В качестве исследуемого материала возможно использовать концентраты воды.

Минимальное количество материала, из которого может производиться выделение нуклеиновых кислот: 100 мкл.

Взятие и подготовка образцов воды проводятся в соответствии с МУК 4.2.2029-05 «Санитарно-вирусологический контроль водных объектов», МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов» и МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды».

Условия транспортирования и хранения образцов воды перед выделением нуклеиновых кислот:

Температура хранения и транспортирования	Время до выделения нуклеиновых кислот
от 2 °С до 8 °С	не более 24 часов
от минус 22 °С до минус 18 °С	не более 1 месяца
минус 70 °С	длительно

Для выделения нуклеиновых кислот из концентратов воды следует использовать стандартную методику выделения (см. 7.1.1).