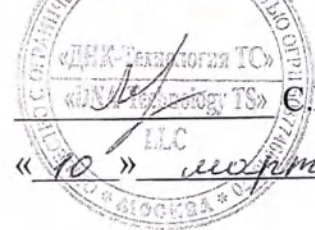


Организация-производитель

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «ДНК-Технология ТС»



С.П. Левичев

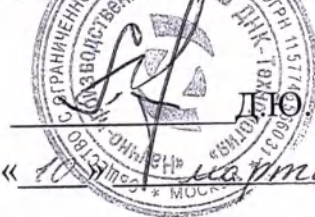
« 10 » марта 2017 г.

Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НИИФ ДНК-Технология»



Д.Ю. Трофимов

« 10 » марта 2017 г.**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ****Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот****ПРОБА-МЧ**

2017 г.

Оглавление

1 НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА	4
2.1 Состав набора реагентов	4
2.2 Число анализируемых проб	4
2.3 Принцип метода.....	4
2.4 Функциональные показатели набора.....	5
2.5 Время проведения выделения нуклеиновых кислот	5
3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	6
4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	8
5 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	9
5.1 Плазма крови.....	9
5.2 Мокрота	9
5.3 Соскобы эпителиальных клеток.....	10
5.4 Моча.....	10
5.5 Слюна, ликвор, синовиальная жидкость	11
5.6 Сперма, секрет предстательной железы	11
5.7 Молоко.....	11
5.8 Мазки и смывы.....	12
5.9 Фекалии	12
5.10 Биопсийный и аутопсийный материал.....	12
5.11 Культуры клеток	12
5.12 Транспортировка и хранение исследуемого материала	13
6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА	14
6.1 Выделение нуклеиновых кислот набором в фасовке для ручного дозирования (фасовка N)	14
6.2 Выделение нуклеиновых кислот набором в фасовке для автоматизированного дозирования (фасовка A).....	24
7 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	27
7.1 Транспортирование	27
7.2 Хранение.....	27
7.3 Указания по эксплуатации.....	27
8 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ.....	27
9 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ.....	28
10 Символы, используемые при маркировке комплекта реагентов	28
11 Символы и обозначения опасности при маркировке комплекта реагентов.....	29
12 Адрес для обращения	29
Приложение 1 Схема выделения при использовании набора в фасовке для ручного дозирования (фасовка N).....	30

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Настоящая инструкция распространяется на набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот (ПРОБА-МЧ), далее по тексту набор.

1.2 Набор реагентов предназначен для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из биологического материала человека и животных, а также из культуры клеток для последующего анализа методом обратной транскрипции (РНК) и/или полимеразной цепной реакции (ДНК).

Набор реагентов ПРОБА-МЧ выпускается в следующих вариантах комплектации: ПРОБА-МЧ-НК, ПРОБА-МЧ-РАПИД.

Комплектация ПРОБА-МЧ-НК предназначена для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из биологического материала для последующего исследования выделенных нуклеиновых кислот методом ПЦР.

Комплектация ПРОБА-МЧ-РАПИД предназначена для быстрого выделения ДНК из биологического материала для последующего исследования выделенной ДНК методом ПЦР.

В качестве биологического материала используют:

- материал с большим количеством ингибиторов ПЦР - плазма крови, слюна, мокрота и бронхоальвеолярный лаваж, молоко, моча, сперма, секрет предстательной железы, фекалии, биоптаты тканей;
- материал, содержащий незначительное количество ингибиторов ПЦР - соскобы эпителиальных клеток, мазки и смывы из респираторного тракта и ротоглотки, биологические жидкости (спинномозговая жидкость (ликвор), амниотическая жидкость, асцитическая жидкость и др.), культуры клеток.

1.3 Набор может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1 Состав набора реагентов

Набор выпускается в следующих фасовках: фасовка для ручного дозирования (маркируется – фасовка N), фасовка для автоматизированного дозирования (маркируется – фасовка A).

2.1.1 Набор в фасовке для ручного дозирования (Фасовка N)

Компоненты набора	Комплектация	
	ПРОБА-МЧ-НК, REF P114-N/8	ПРОБА-МЧ-РАПИД, REF P115-N/8
Лизирующий раствор	1 флакон (30 мл)	1 флакон (15 мл)
Сорбент	1 пробирка (1,1 мл)	1 флакон (9,6 мл)
Связывающий раствор	1 флакон (17 мл)	-
Промывочный раствор	3 флакона (по 40 мл)	1 флакон (30 мл)
Элюирующий раствор	1 флакон (15 мл)	1 флакон (17,4 мл)
Магнитные пестики	3 блистера (по 16 шт.)	3 блистера (по 16 шт.)

2.1.2 Набор в фасовке для автоматизированного дозирования (Фасовка A)

Комплектация	ПРОБА-МЧ-НК, REF P114-A/8	ПРОБА-МЧ-РАПИД, REF P115-A/8
Компоненты набора	Картридж с реагентами – 2 шт.:	Картридж с реагентами – 1 шт.:
	1 ряд* Лизирующий раствор (по 5,3 мл)	1 ряд* Промывочный раствор (по 5,0 мл)
	2 ряд Сорбент (по 195 мкл)	2 ряд Промывочный раствор (по 5,0 мл)
	3 ряд Связывающий раствор (по 3,4 мл)	3 ряд не заполнен
	4 ряд Элюирующий раствор (по 3,0 мл)	4 ряд Лизирующий раствор (по 4,8 мл)
	5 ряд Промывочный раствор (по 8,7 мл)	5 ряд Сорбент (по 3,2 мл)
	6 ряд Промывочный раствор (по 8,7 мл)	6 ряд Элюирующий раствор (по 5,8 мл)
	Магнитные пестики 2 блистера (по 16 шт.)	Магнитные пестики 2 блистера (по 16 шт.)
* Ряд 1 картриджа имеет боковой скос		

2.2 Число анализируемых проб

Набор реагентов в фасовке для ручного дозирования рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 48 анализируемых образцов (включая отрицательные контрольные образцы), в фасовке для автоматизированного дозирования – на 32 образца (включая отрицательные контрольные образцы).

2.3 Принцип метода

Принцип действия основан на проведении лизиса и высвобождении нуклеиновых кислот под действием хаотропного агента (гуанидина тиоционата), с последующей сорбцией на парамагнитных наночастицах и промывкой от примесей.

2.4 Функциональные показатели набора

2.4.1 Эффективность выделения нуклеиновых кислот

Вид биоматериала и нуклеиновых кислот	Полученные результаты
Выделение ДНК из биоматериала с большим количеством ингибиторов ПЦР	27 истинно положительных и 45 истинно отрицательных результатов. Ложноположительные и ложноотрицательные результаты отсутствовали; эффективность составила 100,0 (92,6-100) %.
Выделение РНК из биоматериала с большим количеством ингибиторов ПЦР	было получено 12 истинно положительных и 18 истинно отрицательных результатов. Ложноположительные и ложноотрицательные результаты отсутствовали; эффективность составила 100,0 (83,4-100) %.
Выделение ДНК из биоматериала с незначительным количеством ингибиторов ПЦР	было получено 21 истинно положительных и 91 истинно отрицательных результатов. Ложноположительные и ложноотрицательные результаты отсутствовали; эффективность составила 100,00 (95,2-100) %.
Выделение РНК из биоматериала с незначительным количеством ингибиторов ПЦР	было получено 65 истинно положительных, 59 истинно отрицательных результатов и 1 ложноположительный результат. Ложноотрицательные результаты отсутствовали; эффективность составила 99,2 (94,4-99,2) %.

2.5 Время проведения выделения нуклеиновых кислот:

Фасовка	ПРОБА-МЧ-НК	ПРОБА-МЧ-РАПИД
Фасовка N	90 мин	40 мин
Фасовка А	60 мин	25-40 мин

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические ПЦР исследования клинического материала с соблюдением 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», и с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные.

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

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

Дозаторы, используемые при работе с набором, должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

При использовании набора в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора	ПРОБА-МЧ-НК	ПРОБА-МЧ-РАПИД
Лизирующий раствор	Гуанидина тиоционат	
Сорбент	Нет опасных веществ	Изопропанол
Связывающий раствор	Изопропанол, гуанидина тиоционат	
Промывочный раствор	Азид натрия <0,06%	
Элюирующий раствор	Азид натрия <0,06%	
Блистер с магнитными пестиками	Нет опасных веществ	Нет опасных веществ

В состав набора входят реагенты, которые содержат **раствор изопропанола**¹ (указание на риски: H225, H319, H336).

В состав набора входят реагенты, которые содержат **гуанидина тиоционат**² (указание на риски: H302, H312, H332, H412).

В состав набора входят реагенты, которые содержат **азид натрия**³ – консервант, в концентрации не более 0,06 %, что является безопасным для конечного пользователя (указание на риски: H210).

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

Не использовать комплект реагентов:

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

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.

¹ H225 – Легковоспламеняющиеся жидкость и пары; H319 – вызывает раздражение глаз; H336 – Может вызывать сонливость и головокружение.

² H302 – Вредно при проглатывании; H312 – вредно при контакте с кожей; H332 – вредно при вдыхании;

H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.

³ H210 – Лист данных о безопасности доступен по запросу.

4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Оборудование и материалы	Вариант фасовки	
	N	A
ПЦР-бокс	да	да
устройство дозирующее ДТстрим	нет	да
магнитный гомогенизатор или магнитный штатив	да	да
твердотельный термостат для пробирок типа «Эппендорф», поддерживающий температуру от 25 до 98 °С, например Термит	да	нет
ручка-пинцет для раскладывания пестиков	да	нет
электрический лабораторный аспиратор с колбой-«ловушкой»	да	нет
холодильник бытовой	да	нет
центрифуга с RCF не ниже 16 000g;	нет	да
микроцентрифуга-вортекс	да	да
дозаторы переменного объема со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 2,0-20 мкл, 200-1000 мкл	да	нет
дозаторы переменного объема со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости 20-200 мкл	да	да
наконечники вместимостью 1,0-20 мкл с фильтром, 100-1000 мкл	да	нет
наконечники вместимостью 1,0-200 мкл, 100-1000 мкл	да	да
перчатки одноразовые, без талька	да	да
штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл	да	да
ёмкость с дезинфицирующим раствором для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов	да	да
стерильная прозрачная ёмкость объемом 5,0 мл или более (объём емкости зависит от количества одновременно выделяемых образцов)	да	нет
транспортная среда для биопроб и/или физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный	нет	да
При выделении НК из плазмы: вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette с ЭДТА или цитратом натрия.	да	да
При выделении НК из мокроты (способ 1): 10% раствор трёхзамещенного фосфорнокислого натрия $\times 12\text{H}_2\text{O}$; 1М раствор HCl; 5% раствор хлорамина; вода дистиллированная.	да	да
При выделении НК из мокроты (способ 2): муколизин.	да	да

5 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

5.1 Плазма крови

5.1.1 Взятие цельной периферической крови:

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объемом 2,0 или 4,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2-3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

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

5.1.3 После центрифугирования отберите полуавтоматическим дозатором верхнюю фракцию (плазма) и перенесите в отдельную пластиковую пробирку объемом 1,5 мл. ВНИМАНИЕ! Время от момента взятия периферической крови до получения плазмы не должно превышать 6 часов.

При необходимости плазму допускается хранить при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более 3 месяцев.

ВНИМАНИЕ! Перед выделением нуклеиновых кислот плазму необходимо перемешать!

5.2 Мокрота

Способ 1

5.2.1 Примерно 500 мкл биологического материала перенесите в стерильную посуду.

5.2.2 Добавьте к пробе мокроты равный объем 10% трехзамещенного фосфорнокислого натрия $\times 12\text{H}_2\text{O}$, плотно закройте крышкой и интенсивно встряхните.

5.2.3 Смесь инкубируйте при температуре 37 °С в течение 18-24 ч, затем нейтрализуйте 1М HCl до pH 6,8-7,4.

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

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

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

5.2.7 Центрифугируйте пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин.

5.2.8 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл

(осадок+жидкая фракция).

Способ 2

- 5.2.9 В контейнер с образцом добавьте муколизин в соотношении 5:1 (5 частей муколизина к 1 части мокроты), ориентируясь по градуировке контейнера.
- 5.2.10 Закройте крышку контейнера, встряхните содержимое и инкубируйте 20-30 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С, каждые 2-3 мин встряхивая контейнер.
- 5.2.11 Обработанную мокроту допускается хранить в контейнере в течение суток при температуре от 2 °С до 8 °С или длительно при температуре не выше минус 16 °С (в случае необходимости повторного выделения РНК/ДНК).

5.3 Соскобы эпителиальных клеток

5.3.1 Взятие и предобработка при выделении ДНК

- 5.3.1.1 Перенесите соскоб эпителиальных клеток (с задней стенки глотки, из уретры, заднего свода влагалища, цервикального канала и др.) с помощью одноразового стерильного зонда в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл с транспортной средой (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного), аккуратно перемешайте.
- 5.3.1.2 Извлеките зонд, прижимая его к стенке пробирки и отжимая избыток жидкости. Пробирку плотно закройте.
- 5.3.1.3 Центрифугируйте пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.
- 5.3.1.4 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок+жидкая фракция).

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

5.3.2 Взятие и предобработка при выделении РНК

- 5.3.2.1 Перенесите соскоб эпителиальных клеток с помощью одноразового стерильного зонда в пластиковую пробирку объёмом 1,5 мл со средой для стабилизации РНК в биопробах.
- 5.3.2.2 Извлеките зонд, прижимая его к стенке пробирки и отжимая избыток жидкости. Пробирку плотно закройте.
- 5.3.2.3 Проведите предобработку биоматериала в соответствии с инструкцией к среде для стабилизации РНК в биопробах.

5.4 Моча

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

- 5.4.2 Перенесите 1,0 мл материала в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.
- 5.4.3 Центрифугируйте пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.
- 5.4.4 Наиболее полно удалите надосадочную жидкость.
- 5.4.5 Добавьте к осадку 1,0 мл физиологического раствора стерильного.
- 5.4.6 Центрифугируйте пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.
- 5.4.7 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.5 Слюна, ликвор, синовиальная жидкость

- 5.5.1 Слюну, ликвор, синовиальную жидкость (примерно 500 мкл) соберите в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.
- 5.5.2 Перенесите 500 мкл материала в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.
- 5.5.3 Центрифугируйте пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.
- 5.5.4 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 50 мкл (осадок+жидкая фракция).
- 5.5.5 Добавьте к осадку 500 мкл физиологического раствора стерильного.
- 5.5.6 Центрифугируйте пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.
- 5.5.7 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.6 Сперма, секрет предстательной железы

- 5.6.1 Перенесите 20-30 мкл жидкого материала пипеткой в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл с транспортной средой (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного), встряхните пробирку на вортексе в течение 5-10 с.
- 5.6.2 Центрифугируйте пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.
- 5.6.3 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.7 Молоко

- 5.7.1 Соберите материал в стерильную посуду и плотно закройте крышкой.
- 5.7.2 Аккуратно перемешайте и перенесите 1,0 мл материала в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

Примечание - Срок сбора молока не более 24 часов. Хранение в течение всего срока

сбора при температуре от 2 °С до 8 °С.

5.8 Мазки и смывы

- 5.8.1 Центрифугируйте пробирку, содержащую анализируемый материал, при 13000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.
- 5.8.2 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция).

5.9 Фекалии

- 5.9.1 Перенесите ~250 мг (мкл) фекалий в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл с 1,0 мл физиологического раствора стерильного.
- 5.9.2 Встряхните пробирку на вортексе в течение 5-10 с.
- 5.9.3 Центрифугируйте пробирку при 1000 об/мин в течение 2-3 мин.
- 5.9.4 Перенесите 800-1000 мкл надосадочной жидкости в новую пробирку объемом 1,5 мл, центрифугируйте при 13000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.
- 5.9.5 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок + жидкая фракция).

5.10 Биопсийный и аутопсийный материал

- 5.10.1 Кусочки ткани диаметром не более 5 мм помещают в одноразовые стерильные пробирки объемом 2 мл, содержащих соответствующую транспортную среду. Пробирку плотно закрывают крышкой и маркируют.
- 5.10.2 Полученный материал термостатируйте при 65 °С в течение 30 мин.
- 5.10.3 Осадите конденсат центрифугированием при 1000 об/мин в течение 3-5 с.
- 5.10.4 Перенесите надосадочную жидкость в новую пластиковую пробирку объемом 1,5 мл.

5.11 Культуры клеток

- 5.11.1 В случае жидких культур перенесите 20-30 мкл жидкого материала пипеткой в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл с транспортной средой (или с 500 мкл физиологического раствора стерильного), встряхните пробирку на вортексе в течение 5-10 с.
- 5.11.2 С плотных питательных сред материал берется бактериальной петлей. Бактериальную петлю прокалите над пламенем непосредственно перед взятием материала, затем петлю остудите. Материал перенесите в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл с транспортной средой (или с 500 мкл физиологического раствора

стерильного), аккуратно перемешайте. Пробирку плотно закройте. После переноса бактериальную петлю прожгите повторно для уничтожения находящейся на ней микробной культуры.

- 5.11.3 Центрифугируйте пробирку при 13000 об/мин в течение 10 мин при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С.
- 5.11.4 Удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке примерно 100 мкл (осадок+жидкая фракция).

5.12 Транспортировка и хранение исследуемого материала

Транспортировать и хранить образцы биологического материала до начала исследования следует при температуре от 2 °С до 8 °С не более 24 часов.

Допускается хранить полученный материал при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение 3 месяцев.

6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Общие рекомендации

1. Сорбент содержит очень лёгкие парамагнитные частицы. Если используется лабораторный аспиратор, установите минимальную скорость аспирации и не используйте наконечники большого сечения.
2. На этапе подготовки клинических образцов и выделения нуклеиновых кислот из биоматериала используйте наконечники, свободные от РНКаз и ДНКаз с аэрозольным барьером.
3. Наконечники следует менять при каждом переносе жидкости, при каждом добавлении раствора в пробирку и при каждом удалении раствора из пробирки.
4. Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить образец/реактив или из которой будете удалять надосадочную жидкость, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой.
5. Пробирки с исследуемыми образцами, отрицательным контрольным образцом «К-», а также с калибровочными образцами (при выполнении количественного анализа) обрабатывайте по единой схеме.
6. Таймер термостата запускайте после установки в термостат последней пробирки.
7. В случае выделения нуклеиновых кислот возбудителей из плазмы крови в качестве отрицательного контрольного образца рекомендуется использовать отрицательный контрольный образец из комплекта реагентов для выделения «ПРОБА-НК».
8. Информация о необходимости использования внутреннего контрольного образца содержится в соответствующих инструкциях к наборам для выявления ДНК возбудителей заболеваний методом ПЦР.

6.1 Выделение нуклеиновых кислот комплектации ПРОБА-МЧ-НК (фасовка N), ПРОБА-МЧ-РАПИД (фасовка N).

Особенности работы с набором в фасовке для ручного дозирования (фасовка N).

1. Количество реагента, добавляемого в пробирку, зависит от комплектации и от вида биоматериала (см. Схему выделения в Приложении 1).
2. При работе используется магнитный гомогенизатор или магнитный штатив:
 - Магнитный гомогенизатор обеспечивает осаждение сорбента (парамагнитных частиц) и перемешивание реактивов в пробирке (при добавлении магнитного пестика). Осаждение сорбента проводится при выключенном гомогенизаторе.

Если магнитные частицы за время перемешивания в импульсном режиме в течение 10 мин частично осели выше и/или ниже пестика на стенку пробирки, то встряхните эти пробирки на вортексе в течение 3-5 с, осадите капли на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с, верните их в магнитный гомогенизатор.

Если пробирки во время перемешивания повернулись вокруг оси, то разверните их задней стенкой к магнитному штативу.

– Магнитный штатив обеспечивает только осаждение сорбента (парамагнитных частиц). Перемешивание реактивов в пробирке необходимо выполнять обычным способом (встряхивание на микроцентрифуге-вортексе и краткое центрифугирование).

3. В лизирующем и связывающем растворе допускается выпадение осадка.

В случае выпадения осадка перед началом работы флаконы с лизирующим и связывающим растворами необходимо прогреть при 50 °С в течение 15-20 мин до полного растворения осадка. Перемешайте содержимое флакона переворачиванием флакона вверх дном 5-10 раз, избегая пенообразования.

4. При использовании комплектации «ПРОБА-МЧ-НК» подготовьте термостат: установите температуру 75 °С.

6.1.1 Выделение нуклеиновых кислот с использованием магнитного гомогенизатора

6.1.1.1 Промаркируйте по одной пробирке объёмом 1,5 мл: для каждого исследуемого образца (в том числе для калибровочных образцов при проведении количественных исследований) и для отрицательного контрольного образца «К-».

Примечание – Для образцов, прошедших предобработку с получением осадка и надосадочной жидкости (см. п. 5: мокрота – способ 1, слюна, моча, ликвор, сперма, секрет предстательной железы, мазки и смывы; фекалии), промаркируйте пробирки с подготовленным для исследования материалом в объёме 100 мкл.

6.1.1.2 Аккуратно снимите защитную фольгу с необходимого количества лунок блистера с магнитными пестиками.

6.1.1.3 Внесите в каждую пробирку магнитный пестик (например, с помощью ручки-пинцета).

6.1.1.4 При использовании внутреннего контрольного образца внесите в каждую пробирку по 20 мкл соответствующего внутреннего контрольного образца (РНК-ВК и/или ДНК-ВК), кроме пробирок для калибровочных образцов.

6.1.1.5 Добавьте в каждую пробирку **Лизирующий раствор**, не касаясь края пробирки:

**ПРОБА-МЧ-НК – 600 мкл;
ПРОБА-МЧ-РАПИД – 250 мкл.**

6.1.1.6 Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на вортексе в течение 3-5 с, осадите капли центрифугированием 1000-3000 об/мин в течение 3-5 с.

6.1.1.7 Добавьте в пробирки для исследуемых образцов необходимое количество исследуемого образца:

**ПРОБА-МЧ-НК – 200 мкл;
ПРОБА-МЧ-РАПИД – 100 мкл.**

В пробирку, промаркированную «К-», добавьте отрицательный контрольный образец:

**ПРОБА-МЧ-НК – 200 мкл,
ПРОБА-МЧ-РАПИД – 100 мкл.**

В пробирки для калибровочных образцов добавьте соответствующие калибровочные образцы:

**ПРОБА-МЧ-НК – 200 мкл,
ПРОБА-МЧ-РАПИД – 100 мкл.**

6.1.1.8 Плотно закройте крышки пробирок, встряхните на вортексе в течение 3-5 с дважды, осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3-5 с.

6.1.1.9 Поставьте пробирки в магнитный гомогенизатор (без прослоек и держателей). Запустите гомогенизатор в импульсном режиме на 10 мин.

Выполните п.6.1.1.10 для комплектации ПРОБА-МЧ-НК

6.1.1.10 В отдельной пластиковой пробирке/фальконе приготовьте смесь связывающего раствора и сорбента (с запасом на один образец):

6.1.1.10.1 Перемешайте связывающий раствор, аккуратно перевернув флакон 5-10 раз.

6.1.1.10.2 Пробирку с сорбентом встряхните на вортексе. Перевернув пробирку вверх дном убедитесь, что сорбент не залил на дно пробирки. При необходимости повторите перемешивание сорбента.

6.1.1.10.3 В отдельной пластиковой пробирке/фальконе приготовьте смесь связывающего раствора и сорбента:

	Плазма крови	Биоматериал, кроме плазмы крови
Связывающий раствор	300 мкл x (N+1)	230 мкл x (N+1)
Сорбент	20 мкл x (N+1)	20 мкл x (N+1)

где N+1 – количество анализируемых образцов с учётом «К–» (N) с запасом на 1 образец.

6.1.1.10.4 Перемешайте смесь связывающего раствора и сорбента переворачиванием пробирки/фалькона 5-10 раз.

ВНИМАНИЕ! Не осаждайте центрифугированием! Не ставьте ближе 5 см от магнитного гомогенизатора!

6.1.1.11 Не выключая гомогенизатор, внесите в каждую пробирку с образцами необходимое количество смеси связывающего раствора с сорбентом (ПРОБА-МЧ-НК) или сорбента (ПРОБА-МЧ-РАПИД):

ПРОБА-МЧ-НК (Плазма крови) – 320 мкл

ПРОБА-МЧ-НК (Биоматериал, кроме плазмы крови) – 250 мкл

ПРОБА-МЧ-Рapid – 165 мкл

ВНИМАНИЕ!

- 1 Смесь связывающего раствора и сорбента вносите в каждую пробирку отдельным наконечником, при внесении смеси сразу выполните пипетирование 2-3 раза. Смените наконечник!
- 2 Смесь связывающего раствора и сорбента вносите аккуратно, не касаясь содержимого пробирки и не допуская образование капель смеси связывающего буфера и сорбента на стенке пробирки.

6.1.1.12 После внесения смеси закройте пробирку и сразу перемешайте на вортексе 3-5 с.

ВНИМАНИЕ! Не допускайте оседания сорбента в приготовленной смеси, при необходимости повторите перемешивание смеси пипетированием.

ВНИМАНИЕ! Не ставьте пробирку/фалькон со смесью связывающего раствора и сорбента ближе 5 см от магнитного гомогенизатора или магнитного штатива.

6.1.1.13 После добавления смеси связывающего раствора и сорбента к образцам, оставьте магнитный гомогенизатор включенным в импульсном режиме на 10 мин.

Прекратите перемешивание, нажав на кнопку запуска во время паузы.

Не вынимая пробирки из гомогенизатора, осадите сорбент на стенки пробирок в течение 7 мин.

6.1.1.14 Максимально отберите надосадочную жидкость (не вынимая пробирки из штатива, не затрагивая сорбента).

6.1.1.15 Внесите в каждую пробирку **Промывочный раствор:**

ПРОБА-МЧ-НК (Плазма крови) – 800 мкл

ПРОБА-МЧ-НК (Биоматериал, кроме плазмы крови) – 900 мкл

ПРОБА-МЧ-РАПИД – 250 мкл

6.1.1.16 Запустите магнитный гомогенизатор на 30 сек. (остановите во время 5-ой паузы).

6.1.1.17 Не вынимая пробирки из гомогенизатора, осадите сорбент на стенки пробирок в течение 2 мин. (гомогенизатор выключен).

п.6.1.18-6.1.24 (вторая и третья отмывка) выполняются только для комплектации «ПРОБА-МЧ-НК».

6.1.1.18 Внесите в каждую пробирку **Промывочный раствор:**

ПРОБА-МЧ-НК (Плазма крови) – 800 мкл

ПРОБА-МЧ-НК (Биоматериал, кроме плазмы крови) – 500 мкл

6.1.1.19 Перемешайте 3-5 раз аккуратно переворачивая пробирки (омывая внутреннюю поверхность крышки). Осадите капли центрифугированием при 1000–3000 об/мин в течение 3-5 с.

6.1.1.20 Установите пробирки в магнитный гомогенизатор.

6.1.1.21 Запустите магнитный гомогенизатор на 30 с. (остановите во время 5-ой паузы).

6.1.1.22 Осадите магнитные частицы на стенки пробирок в течение 2 мин. (гомогенизатор выключен).

6.1.1.23 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость.

6.1.1.24 Внесите в каждую пробирку **Промывочный раствор:**

ПРОБА-МЧ-НК (Плазма крови) – 800 мкл

ПРОБА-МЧ-НК (Биоматериал, кроме плазмы крови) – 500 мкл

6.1.1.25 Запустите магнитный гомогенизатор на 30 сек. (остановите во время 5-ой паузы).

6.1.1.26 Не вынимая пробирки из гомогенизатора, осадите магнитные частицы на стенки пробирок в течение 2 мин.

6.1.1.27 Не вынимая пробирок, не задевая осадок полностью удалите надосадочную жидкость.

6.1.1.28 Добавьте к осадку Элюирующий раствор.

Количество элюирующего раствора зависит от следующих параметров:

- тип исследования;
- количество параметров исследования;
- количество исследований, которые будут проведены из одного образца нуклеиновых кислот.

Рекомендуемое количество элюата при выделении нуклеиновых кислот указано в инструкциях к наборам реагентов для проведения ПЦР-исследований.

Например:

Тип исследования	Количество элюирующего раствора, мкл
Вирусы гепатитов и ВИЧ	30
Урогенитальные возбудители	100
Комплексные исследования (например, Фемофлор, Иммунокуантэкс С/У, HPV квант-21)	300

6.1.1.29 Аккуратно, избегая разбрызгивания сорбента на стенки и крышку пробирки, перемешайте содержимое на микроцентрифуге-вортексе. Осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3-5 с.

п.6.1.1.30 - 6.1.33 выполняются только для комплектации «ПРОБА-МЧ-НК»

6.1.1.30 Установите пробирки в предварительно прогретый до 75 °С термостат.

6.1.1.31 Термостатируйте пробирки при 75 °С 15 мин.

6.1.1.32 Осадите конденсат коротким центрифугированием при 1000–3000 об/мин в течение 3-5 с.

6.1.1.33 Аккуратно, избегая разбрызгивания сорбента на стенки и крышку пробирки, перемешайте содержимое на микроцентрифуге-вортексе. Осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3-5 с.

6.1.1.34 Установите пробирки в магнитный гомогенизатор на 1-3 мин для осаждения сорбента на стенки пробирок. Не включайте гомогенизатор!

6.1.2 Выделение нуклеиновых кислот с использованием магнитного штатива

6.1.2.1 Промаркируйте по одной пробирке объемом 1,5 мл для каждого исследуемого образца (в том числе для калибровочных образцов при проведении

количественных исследований) и для отрицательного контрольного образца «К-».

Примечание – Для образцов, прошедших предобработку с получением осадка и надосадочной жидкости (см. п. 5: мокрота – способ 1, слюна, моча, ликвор, сперма, секрет предстательной железы, мазки и смывы; фекалии), промаркируйте пробирки с подготовленным для исследования материалом в объеме 100 мкл.

6.1.2.2 При использовании внутреннего контрольного образца внесите в каждую пробирку по 20 мкл соответствующего внутреннего контрольного образца (РНК-ВК и/или ДНК-ВК), кроме пробирок для калибровочных образцов.

6.1.2.3 Добавьте в каждую пробирку **Лизирующий раствор**, не касаясь края пробирки:

**ПРОБА-МЧ-НК – 600 мкл;
ПРОБА-МЧ-РАПИД – 250 мкл**

6.1.2.4 Плотнo закройте крышки пробирок, встряхните на вортeксе в течение 3-5 с, осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3-5 с.

6.1.2.5 Добавьте в пробирки для исследуемых образцов необходимое количество исследуемого образца:

**ПРОБА-МЧ-НК – 200 мкл,
ПРОБА-МЧ-РАПИД – 100 мкл.**

В пробирку, промаркированную «К-», добавьте отрицательный контрольный образец:

**ПРОБА-МЧ-НК – 200 мкл,
ПРОБА-МЧ-РАПИД – 100 мкл.**

В пробирки для калибровочных образцов добавьте соответствующие калибровочные образцы:

**ПРОБА-МЧ-НК – 200 мкл,
ПРОБА-МЧ-РАПИД – 100 мкл.**

6.1.2.6 Плотнo закройте крышки пробирок, встряхните на вортeксе в течение 3-5 с дважды, осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3-5 с.

- 6.1.2.7 Поставьте пробирки в штатив «рабочее место» на 10 мин. Периодически (каждые 2-3 мин) встряхивайте пробирки на вортексе в течение 3-5 с. Через 10 мин снова встряхните пробирки на вортексе в течение 3-5 с, осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин 3-5 с.

Выполните п.6.1.2.8 только для комплектации ПРОБА-МЧ-НК

- 6.1.2.8 В отдельной пластиковой пробирке/фальконе приготовьте смесь связывающего раствора и сорбента (с запасом на один образец):
- 6.1.2.8.1 Перемешайте связывающий раствор, аккуратно перевернув флакон 5-10 раз.
- 6.1.2.8.2 Пробирку с сорбентом встряхните на вортексе. Перевернув пробирку вверх дном убедитесь, что сорбент не залип на дно пробирки. При необходимости повторите перемешивание сорбента.
- 6.1.2.8.3 В отдельной пластиковой пробирке/фальконе приготовьте смесь связывающего раствора и сорбента:

	Плазма крови	Биоматериал, кроме плазмы крови
Связывающий раствор	300 мкл х (N+1)	230 мкл х (N+1)
Сорбент	20 мкл х (N+1)	20 мкл х (N+1)

где N+1 – количество анализируемых образцов с учётом «К–» (N) с запасом на 1 образец.

- 6.1.2.8.4 Перемешайте смесь связывающего раствора и сорбента переворачиванием пробирки/фалькона 5-10 раз.

ВНИМАНИЕ! Не осаждайте центрифугированием! Не оставляйте ближе 5 см от магнитного гомогенизатора!

- 6.1.2.9 Внесите в каждую пробирку с образцами необходимое количество смеси связывающего раствора с сорбентом (ПРОБА-МЧ-НК) или **сорбент** (ПРОБА-МЧ-РАПИД):

ПРОБА-МЧ-НК (Плазма крови) - 320 мкл

ПРОБА-МЧ-НК (Биоматериал, кроме плазмы крови) - 250 мкл

ПРОБА-МЧ-РАПИД - 165 мкл

ВНИМАНИЕ!

- 1 Смесь связывающего раствора и сорбента вносите в каждую пробирку отдельным наконечником, при внесении смеси сразу выполните пипетирование 2-3 раза. Смените наконечник!

- 2 Смесь связывающего раствора и сорбента вносите аккуратно, не касаясь содержимого пробирки и не допуская образование капель смеси связывающего буфера и сорбента на стенке пробирки.

6.1.2.10 После внесения смеси закройте пробирку и сразу перемешайте на вортексе 3-5 с.

ВНИМАНИЕ!

1 Не допускайте оседания сорбента в приготовленной смеси, при необходимости повторите перемешивание смеси пипетированием.

2 Не ставьте пробирку/фалькон со смесью связывающего раствора и сорбента ближе 5 см от магнитного гомогенизатора или магнитного штатива.

6.1.2.11 После добавления смеси связывающего раствора и сорбента, повторно встряхните пробирки на вортексе в течение 3-5 с.

6.1.2.12 Установите пробирки в штатив «рабочее место» на 10 мин. Периодически (каждые 2-3 мин) встряхивайте пробирки на вортексе 1-3 с.

6.1.2.13 Через 10 мин снова встряхните пробирки на вортексе в течение 3-5 с, осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин 3-5 с.

6.1.2.14 Установите пробирки в магнитный штатив: осадите сорбент на стенки пробирок в течение 7 мин.

6.1.2.15 Максимально отберите надосадочную жидкость (не вынимая пробирки из штатива, не затрагивая сорбента).

6.1.2.16 Внесите в каждую пробирку Промывочный раствор:

ПРОБА-МЧ-НК (Плазма крови) – 800 мкл

ПРОБА-МЧ-НК (Биоматериал, кроме плазмы крови) – 900 мкл

ПРОБА-МЧ-РАПИД – 250 мкл

6.1.2.17 Встряхните пробирки на вортексе в течение 3-5 с, осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин 3-5 с.

6.1.2.18 Установите пробирки в магнитный штатив: осадите сорбент в течение 2 мин.

п.6.1.2.19-6.1.2.25 выполняются только для комплектации «ПРОБА-МЧ-НК».

6.1.2.19 Внесите в каждую пробирку Промывочный раствор:

ПРОБА-МЧ-НК (Плазма крови) – 800 мкл

ПРОБА-МЧ-НК (Биоматериал, кроме плазмы крови) – 500 мкл

6.1.2.20 Перемешайте 3-5 раз аккуратно переворачивая пробирки (омывая внутреннюю поверхность крышки). Осадите капли центрифугированием при 1000–3000 об/мин в течение 3-5 с.

6.1.2.21 Установите пробирки в магнитный штатив: осадите сорбент на стенки пробирок в течение 2 мин.

6.1.2.22 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость.

6.1.2.23 Внесите в каждую пробирку **Промывочный раствор**.

ПРОБА-МЧ-НК (Плазма крови) – 800 мкл

ПРОБА-МЧ-НК (Биоматериал, кроме плазмы крови) – 500 мкл

6.1.2.24 Встряхните пробирки на вортеске в течение 3-5 с, осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин 3-5 с. Установите в магнитный штатив.

6.1.2.25 Не вынимая пробирок, не задевая осадок полностью удалите надосадочную жидкость.

6.1.2.26 Добавьте к осадку **Элюирующий раствор**

Количество элюирующего раствора зависит от следующих параметров:

- тип исследования;
- количество параметров исследования;
- количество исследований, которые будут проведены из одного образца нуклеиновых кислот.

Рекомендуемое количество элюата при выделении нуклеиновых кислот указано в инструкциях к наборам реагентов для проведения ПЦР-исследований.

Например:

Тип исследования	Количество элюирующего раствора, мкл
Вирусы гепатитов и ВИЧ	30
Урогенитальные возбудители	100
Комплексные исследования (например, Фемофлор, Иммуноквантэкс С/У, НРV квант-21)	300

6.1.2.27 Аккуратно, избегая разбрызгивания сорбента на стенки и крышку пробирки, перемешайте содержимое на микроцентрифуге-вортеске. Осадите капли центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3-5 с.

п.6.1.2.28 - 6.1.2.31 выполняются только для комплектации «ПРОБА-МЧ-НК»

- 6.1.2.28 Установите пробирки в предварительно прогретый до 75 °С термостат.
- 6.1.2.29 Термостатируйте пробирки при 75 °С 15 мин.
- 6.1.2.30 Осадите конденсат центрифугированием при 1000-3000 об/мин в течение 3-5 с.
- 6.1.2.31 Аккуратно, избегая разбрызгивания сорбента на стенки и крышку пробирки, перемешайте содержимое на микроцентрифуге-вортексе. Осадите капли центрифугированием 1000-3000 об/мин в течение 3-5 с.
- 6.1.2.32 Установите в магнитный штатив на 1-3 мин для осаждения сорбента на стенки пробирок.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенные нуклеиновые кислоты, готова к внесению в реакционную смесь для обратной транскрипции и ПЦР-амплификации.

Рекомендуется обратную транскрипцию ставить сразу же после выделения РНК/ДНК.

ВНИМАНИЕ! Отбор надосадочной жидкости, содержащей нуклеиновые кислоты, для проведения ОТ-ПЦР/ПЦР осуществляется без снятия пробирок с магнитного гомогенизатора. Отбирать раствор нуклеиновых кислот для реакции нужно очень осторожно, не захватывая магнитные частицы.

6.2 Выделение нуклеиновых кислот. Комплектации ПРОБА-МЧ-НК (фасовка А), ПРОБА-МЧ-РАПИД (фасовка А).

Примечание – В ячейках со связывающим и лизирующими растворами при хранении в холодильнике допускается выпадение осадка. Перед началом работы его необходимо растворить прогреванием при 60 °С в течение 15-20 мин или при комнатной температуре в течении 1-2 часов.

- 6.2.1 Установите штатив с наконечниками на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим.
- 6.2.2 Подготовьте блистер с пестиками: аккуратно снимите защитную плёнку, установите на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим.
- 6.2.3 Установите картридж с растворами скошенными углами вперёд на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим. Перед использованием не распечатывайте.
- 6.2.4 Проверьте готовность дозирующего устройства ДТстрим:

- правильность установки магнитного пинцета (подвижной панелью назад),
- наличие устройства сброса наконечников.

6.2.5 Промаркируйте необходимое количество пластиковых пробирок объемом 1,5 мл (4, 8, 12, 16, 20, 24, 28 или 32 с учётом пробирки для «К-»).

6.2.6 Добавьте в пробирки для исследуемых образцов необходимое количество исследуемого образца:

ПРОБА-МЧ-НК – 200 мкл,

ПРОБА-МЧ-РАПИД – 100 мкл.

6.2.7 В пробирку, промаркированную «К-», добавьте отрицательный контрольный образец:

ПРОБА-МЧ-НК – 200 мкл,

ПРОБА-МЧ-РАПИД – 100 мкл.

6.2.8 В пробирки для калибровочных образцов добавьте соответствующие калибровочные образцы:

ПРОБА-МЧ-НК – 200 мкл,

ПРОБА-МЧ-РАПИД – 100 мкл.

6.2.9 Устанавливайте образцы в штатив слева направо, сверху вниз.

6.2.10 Установите пробирки с образцами (включая пробирку «К-») в штатив для выделения, установите штатив на магнитный гомогенизатор.

6.2.11 Запустите на управляющем компьютере программу DTStreamRunner (см. инструкцию по эксплуатации), выберите сценарий запуска.

6.2.12 Установите параметры дозирования: количество образцов, объем элюата (растворённого образца нуклеиновых кислот после выделения):

Количество элюирующего раствора зависит от следующих параметров:

- тип исследования;
- количество параметров исследования;
- количество исследований, которые будут проведены из одного образца нуклеиновых кислот.

Рекомендуемое количество элюата при выделении нуклеиновых кислот указано в инструкциях к наборам реагентов для проведения ПЦР-исследований.

Например:

Тип исследования	Количество элюирующего раствора,
------------------	----------------------------------

	мкл
Вирусы гепатитов и ВИЧ	30
Урогенитальные возбудители	100
Комплексные исследования (например, Фемофлор, Иммунокуантэкс С/У, HPV квант-21)	300

6.2.13 Запустите выполнение дозирования реагентов.

ВНИМАНИЕ! После запуска обязательно визуально проконтролируйте раскладку магнитных пестиков в начале выполнения программы!

6.2.14 Закройте крышки пробирок после выполнения программы.

Надосадочная жидкость, содержащая выделенные нуклеиновые кислоты, готова к внесению в реакционную смесь для ПЦР-амплификации. Полученный препарат нуклеиновых кислот можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более 7 суток или при температуре минус 18 °С до минус 22 °С не более 1 года.

Примечание – Если предполагается хранить препарат нуклеиновых кислот более 7 суток, необходимо перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

7 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

7.1 Транспортирование

7.1.1 Транспортирование набора осуществляют всеми видами крытого транспорта при температурах, соответствующих условиям хранения компонентов, входящих в состав набора.

7.1.2 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

7.2 Хранение

7.2.1 Набор реагентов следует хранить в холодильниках или холодильных камерах при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности.

7.2.2 При хранении при температуре от 2 °С до 8 °С допускается выпадение небольшого осадка в лизирующем и связывающем растворах.

Примечание - Осадок растворяется прогреванием при 65 °С.

7.2.3 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

7.3 Указания по эксплуатации

7.3.1 Набор должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

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

- компоненты набора следует хранить в холодильниках или холодильных камерах при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.

7.3.3 Смесь сорбента со связывающим раствором хранению не подлежит.

8 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

8.1 Наборы, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности и неиспользованные реактивы, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790 и МУ 1.3.2569.

ВНИМАНИЕ! Компоненты комплекта реагентов с наличием предупредительных знаков об опасности следует уничтожать с соблюдением соответствующих мер безопасности в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации.

- 8.2 Жидкие компоненты, входящие в состав набора реагентов, пришедшие в непригодность, перед сливом в канализацию должны быть предварительно разбавлены водой в соотношении 1:100.
- 8.3 Упаковка набора реагентов (первичная: пробирки, флаконы и внешняя: полиэтиленовые пакеты с замком и коробки из картона) относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

9 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

- 9.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.
- 9.2 Срок годности набора – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

10 Символы, используемые при маркировке комплекта реагентов

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

11 Символы и обозначения опасности при маркировке комплекта реагентов

	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Легковоспламеняемое
	Вызывает раздражение глаз
	Содержит азид натрия не более 0,06%

12 Адрес для обращения

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, г. Москва, Варшавское шоссе, д. 125 ж, к.6.

тел./факс +7 (495) 640-17-71, www.dna-technology.ru

Служба клиентской поддержки: 8 (800) 200-75-15 (звонок по России бесплатный),

E-mail: hotline@dna-technology.ru

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании

«ДНК-Технология»: http://www.dna-technology.ru/customer_support/

Адрес производителя и место производства:

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

Ведущий научный сотрудник
ООО «НПФ ДНК-Технология»,
кандидат биологических наук

Д.Д. Абрамов
« 10 » 03 2017 г.

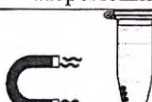
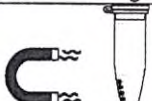
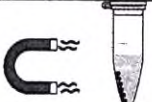
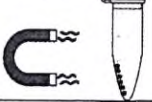
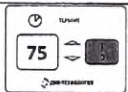
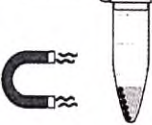
СОГЛАСОВАНО

Директор ФГБУ «НЦАГиП
им. В.И. Кулакова» Минздрава России,
академик РАН, профессор

Г.Т. Сухих
« 10 » 03 2017 г.



Приложение 1
**Схема выделения при использовании набора в фасовке для ручного дозирования
(фасовка N)**

		ПРОБА-МЧ-НК		ПРОБА-МЧ-РАПИД
		Плазма крови	Биоматериал, кроме плазмы крови	
Клинический образец		200 мкл		100 мкл
1. Лизис (комнатная температура от 18 °С до 25 °С)		Клинический образец + 600 мкл лизирующего раствора		Клинический образец + 250 мкл лизирующего раствора
	Перемешивание	10 мин		
2. Связывание РНК/ДНК с сорбентом (комнатная температура от 18 °С до 25 °С)		300 мкл связывающего раствора + 20 мкл сорбента	230 мкл связывающего раствора + 20 мкл сорбента	165 мкл сорбента
	Перемешивание	10 мин		5 мин
		Осаждение сорбента (комнатная температура от 18 °С до 25 °С, 7 мин)		
		Отбор надосадочной жидкости (не вынимать пробирки из магнитного штатива).		
3. Промывка Проба-МЧ-НК – 3 раза, Проба-МЧ-Рapid – 1 раз!		800/800/800 мкл промывочного раствора	900/500/500 мкл промывочного раствора	250 мкл промывочного раствора (один раз!)
	Перемешивание	30 с		
		Осаждение сорбента (комнатная температура от 18 °С до 25 °С, 2 мин)		
		Отбор надосадочной жидкости (не вынимать пробирки из магнитного штатива).		
4. Элюция РНК/ДНК (75 °С, 15 мин)		30-300 мкл элюирующего раствора	30-300 мкл элюирующего раствора	100-300 мкл элюирующего раствора
		Прогрев 75 °С, 15 мин		не выполняется
		центрифуга - вортекс - центрифуга		
Осаждение сорбента (комнатная температура от 18 °С до 25 °С, 1-3 мин)		Отбор раствора нуклеиновых кислот (не вынимать пробирки из магнитного штатива).		

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 30

(тридцать) листа (ов)

специалиста по регистрации

Щербаков, Н.И.



[Signature]