

МАКЕТ ПАСПОРТА!!!



ООО «ДНК-Технология ТС»

Паспорт качества № XXXXXX

Набор реагентов для предобработки биоматериала
при выделении нуклеиновых кислот (ПРОБА-ПК)

Комплектация 1

Серия:

XXX-2М

Дата изготовления:

XXXX-XX-XX

Срок годности:

до XXXX-XX-XX*

Результат контроля

1. Проверка комплектности, упаковки и маркировки – соответствует требованиям ТУ 21.20.23-107-46482062-2020.
2. Проверка состава и внешнего вида

Компонент	Количество	Характеристика и норма	Условия хранения	Результат
Буфер ПК	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Буфер ПК-НТ	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Протеиназа К	1 пробирка	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	от минус 18 °С до минус 22 °С	Соответствует

3. Проверка функциональных показателей

Наименование показателя	Характеристика и норма	Результат
Отсутствие ингибиторов ПЦР	При проведении ПЦР в режиме реального времени: положительный результат амплификации ДНК	Соответствует
Отсутствие контаминации молекулами ДНК человека	При проведении ПЦР в режиме реального времени для исследования «КВМ» значение lg не указано или lg ≤ 2,5	Соответствует
Отсутствие контаминации молекулами ДНК бактерий	При проведении ПЦР в режиме реального времени: для исследования «Общая бактериальная масса» значение lg ≤ 3,5; для исследования «Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.» - значение lg не указано или lg ≤ 2,5; для исследования «Lactobacillus spp.» - значение lg не указано	Соответствует
Отсутствие контаминации молекулами ДНК грибов	При проведении ПЦР в режиме реального времени для исследования «Candida spp.» значение lg не указано или lg ≤ 3,0	Соответствует

Условия транспортирования: от 2 °С до 25°С не более 5 суток

Заключение ОТК: соответствует требованиям ТУ 21.20.23-107-46482062-2020

Дата выдачи паспорта: XXXX-XX-XX

*Срок годности 12 месяцев от даты изготовления

МАКЕТ ПАСПОРТА!!!

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

ООО «ДНК-Технология ТС»

Паспорт качества № XXXXXX

Набор реагентов для предобработки биоматериала
при выделении нуклеиновых кислот (ПРОБА-ПК)

Комплектация 2

Серия:

XXX-2M

Дата изготовления:

XXXX-XX-XX

Срок годности:

до XXXX-XX-XX*

Результат контроля

1. Проверка комплектности, упаковки и маркировки – соответствует требованиям ТУ 21.20.23-107-46482062-2020.
2. Проверка состава и внешнего вида

Компонент	Количество	Характеристика и норма	Условия хранения	Результат
Буфер ПК	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость	от 2 °С до 8 °С	Соответствует
Протеиназа К	1 пробирка	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	от минус 18 °С до минус 22 °С	Соответствует

3. Проверка функциональных показателей

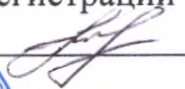
Наименование показателя	Характеристика и норма	Результат
Отсутствие ингибиторов ПЦР	При проведении ПЦР в режиме реального времени: положительный результат амплификации ДНК (экспоненциальный рост кривой флуоресценции по каналу детекции Fam)	Соответствует
Отсутствие контаминации молекулами ДНК человека	При проведении ПЦР в режиме реального времени для исследования «КВМ» значение lg не указано или lg ≤ 2,5	Соответствует
Отсутствие контаминации молекулами ДНК бактерий	При проведении ПЦР в режиме реального времени: для исследования «Общая бактериальная масса» значение lg ≤ 3,5; для исследования «Gardnerella vaginalis + Prevotella bivia + Porphyromonas spp.» - значение lg не указано или lg ≤ 2,5; для исследования «Lactobacillus spp.» - значение lg не указано	Соответствует
Отсутствие контаминации молекулами ДНК грибов	При проведении ПЦР в режиме реального времени для исследования «Candida spp.» значение lg не указано или lg ≤ 3,0	Соответствует

Условия транспортирования: от 2 °С до 25°С не более 5 суток

Заключение ОТК: соответствует требованиям ТУ 21.20.23-107-46482062-2020

Дата выдачи паспорта: XXXX-XX-XX

*Срок годности 12 месяцев от даты изготовления

Прошито, пронумеровано и
скреплено печатью 2
(два) листа (ов)
специалист по регистрации
Шербакова Н.И. 



Организация-производитель

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «ДНК-Технология ТС»



С.А. Самарин

« 04 » марта 2021 г.

Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НПО ДНК-Технология»



С.П. Левичев

« 04 » марта 2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**Набор реагентов для предобработки биоматериала при
выделении нуклеиновых кислот
(ПРОБА-ПК)**

2021 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения:

ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 **Полное наименование изделия:** Набор реагентов для предобработки биоматериала при выделении нуклеиновых кислот (ПРОБА-ПК)

1.2 **Назначение:** Набор реагентов предназначен для устранения ингибирующих эффектов, вызванных фиксацией, и протеолиза белков протеиназой К в биоматериале человека (фиксированные в формалине парафинизированные ткани; нативные ткани; соскобы цервикального канала, взятые в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии) перед экстракцией нуклеиновых кислот для молекулярно-генетических исследований с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР).

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

1.4 **Демографические и популяционные аспекты:** Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.5 **Противопоказаний к применению нет.**

1.6 **Область применения:** Набор реагентов может быть использован в клинко-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

1.7 **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.

1.8 **Применять набор реагентов строго по назначению согласно данной инструкции по применению.**

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

Набор реагентов для предобработки биоматериала при выделении нуклеиновых кислот (ПРОБА-ПК) (далее набор реагентов ПРОБА-ПК) выпускается в следующих вариантах комплектации:

- Комплектация 1
- Комплектация 2

Комплектация 1 предназначена для предварительной обработки фиксированных в формалине парафинизированных тканей; нативных тканей; соскобов цервикального канала, взятых в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии.

Комплектация 2 является сокращенным вариантом комплектации 1 и предназначена для предварительной обработки фиксированных в формалине парафинизированных тканей и соскобов цервикального канала, взятых в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии.

REF P-028-N/2, Комплектация 1			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество флаконов/пробирок	Номинальный объём компонента
Буфер ПК	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	15 мл
Буфер ПК-НТ	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	20 мл
Протеиназа К	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	250 мкл

REF P-030-N/2, Комплектация 2			
Наименование компонентов	Внешний вид	Количество флаконов/пробирок	Номинальный объём компонента
Буфер ПК	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	15 мл
Протеиназа К	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	1 пробирка	250 мкл

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

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов предназначен для однократного применения и рассчитан на 50 образцов, включая отрицательные контрольные образцы.

2.3 Принцип метода

Принцип метода основан на протеолизе белков протеиназой К и устранении ингибирующих эффектов, вызванных сшивками нуклеиновых кислот под воздействием фиксаторов, с целью повышения эффективности экстракции нуклеиновых кислот при последующем выделении ДНК и/или РНК.

Биологический материал, фиксированный в формалине и запечатанный в парафин, часто не пригоден для прямого выделения нуклеиновых кислот из-за сшивания нуклеиновых кислот с белками и другими клеточными компонентами, а также из-за образования между цепями молекул нуклеиновых кислот поперечных сшивок (кросс-линков), вызванных воздействием формальдегида [1]. Это приводит к невозможности экстракции нуклеиновых кислот путем стандартной инкубации в лизирующих растворах, предварительно необходимо изолировать парафин и устранить ингибирующие эффекты, вызванные сшивками нуклеиновых кислот под воздействием фиксаторов [2].

При фиксации в некоторых спиртовых транспортных средах для жидкостной цитологии, например, в консервирующей жидкости BD SurePath (Becton Dickinson, США, ФСР №ФСЗ 2010/06235) происходит сшивание нуклеиновых кислот с белками, поэтому также необходима предварительная обработка образцов с целью освобождения ДНК из белок-ассоциированных комплексов и лизиса клеток [3].

Образцы тканей содержат большое количество белков, не только внутриклеточных, но и внеклеточного матрикса, поэтому для более эффективного выделения нуклеиновых кислот требуются дополнительные манипуляции, например, гомогенизация и протеолиз белков.

Список литературы

1. Patel PG, Selvarajah S, Guérard KP, Bartlett JMS, Lapointe J, Berman DM, Okello JBA, Park PC. Reliability and performance of commercial RNA and DNA extraction kits for FFPE tissue cores. PLoS One. 2017; 12(6): e0179732.
2. Kotorashvili A, Ramnauth A, Liu C, Lin J, Ye K, Kim R, Hazan R, Rohan T, Fineberg S, Loudig O. Effective DNA/RNA Co-Extraction for Analysis of MicroRNAs, mRNAs, and Genomic DNA from Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Specimens. PLoS One. 2012; 7(4): e34683.
3. Kubik MJ, Permenter T, Saremlan J. Specimen Age Stability for Human Papilloma Virus DNA Testing Using BD SurePath. Lab Med. 2015;46(1):51-4.

2.4 Ограничение метода

Применение набора ПРОБА-ПК ограничено требованиями инструкции по применению набора для выделения нуклеиновых кислот, с которым предполагается его совместное применение. Выбор целевой нуклеиновой кислоты (ДНК и/или РНК) определяется используемым набором для выделения. Для дальнейшей экстракции нуклеиновых кислот используйте комплекты реагентов в соответствии с их назначением.

Применение набора ПРОБА-ПК ограничено требованиями инструкции по применению транспортно-фиксирующей среды для жидкостной цитологии, с которой предполагается его совместное применение. Транспортно-фиксирующая среда для жидкостной цитологии BD SurePath предназначена для приготовления цитологических клеточных препаратов гинекологических мазков.

Набор реагентов ПРОБА-ПК не предусмотрен для выделения РНК из биоматериала, фиксированного в транспортной среде BD SurePath.

2.5 Время проведения подготовки к выделению нуклеиновых кислот:

Время предварительной обработки материала перед выделением нуклеиновых кислот составляет от 60 минут и зависит от вида биоматериала и количества образцов в постановке: фиксированные в формалине парафинизированные ткани - 60 минут для РНК и 150 минут для ДНК; нативные ткани – 60 минут; соскобы в транспортно-фиксирующей среде для жидкостной цитологии – 90 минут.

3 ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Эффективность предобработки биоматериала определяют после экстракции нуклеиновых кислот. Вследствие этого качество и количество нуклеиновых кислот в значительной степени зависит от используемой в дальнейшем системы выделения. Оценку качества и количества нуклеиновых кислот проводят по оптическим характеристикам или после проведения ПЦР. Для оценки качества нуклеиновых кислот могут быть использованы следующие показатели: концентрация нуклеиновых кислот, соотношение оптической плотности A260/A230 (наличие примесей органических соединений), соотношение оптической плотности A260/A280 (наличие примесей белков), оценка результатов ПЦР.

При хороших оптических характеристиках нуклеиновые кислоты могут не амплифицироваться в ПЦР. Причинами могут быть частичная деградация или модификации нуклеиновых кислот, возникшие при фиксации биоматериала, которые могут снижать эффективность ПЦР. В связи с этим, оценка качества и количества нуклеиновых кислот для дальнейшего анализа может быть осуществлена по величине C_p исследуемых и контрольных аналитов/показателей (контроля взятия материала (КВМ), референсных генов при исследовании транскриптов генов (мРНК) и внутренних контролей (ВК) прохождения реакции).

При проведении клинико-лабораторных испытаний набора реагентов ПРОБА-ПК в сочетании с разными методами выделения нуклеиновых кислот получены следующие характеристики:

Аналит	Видовая принадлежность	Проба-ПК в комбинации с набором для выделения НК	Количество нуклеиновых кислот, мкг	A260/A280	A260/A230	Эффективность ¹
Соскобы цервикального канала в транспортно-фиксирующей среде для жидкостной цитологии n = 54 образца						
ДНК	Вирусы	ПРОБА-НК-ПЛЮС	0,8 – 6,4	1,6 – 1,9	0,1 - 0,9	100 % (P _{ист} = 99,7)
		ПРОБА-МЧ-РАПИД	2,7 – 10,7	1,2 – 1,5	0,1 – 0,3	
	Вирусы, бактерии, грибы, простейшие	ПРОБА-ГС-ПЛЮС	2,5 – 5,1	2,0 – 2,0	0,1 - 0,1	
		ПРОБА-МЧ-НК	1,4 – 7,0	1,6 – 2,0	0,1 – 0,6	
Образцы парафиновых срезов, фиксированных в парафине тканей (ткань молочной железы n = 30 образцов; ткань легкого n = 30 образцов)						
ДНК	Человек (геномная ДНК)	ПРОБА-НК-ПЛЮС	1,1 – 26,5	1,6 – 1,8	0,05 – 0,6	100 % (P _{ист} = 99,1)
РНК	Человек (мРНК генов человека)	ПРОБА-НК	1,2 – 10,5	1,8 – 2,0	0,1 – 1,7	100 % (P _{ист} = 96,2)
		ПРОБА-МЧ-НК	1,2 – 6,9	1,7 – 2,0	0,1 – 0,1	
Нативная ткань (ткань молочной железы n = 28 образцов)						
РНК и ДНК	Человек (мРНК генов человека)	ПРОБА-НК	2,1 – 40,3 (ДНК) 1,0 – 30,5 (РНК)	1,7–1,9	0,1–1,9	ДНК 100 % (P _{ист} = 96,0)
	Человек (геномная ДНК)	ПРОБА-МЧ-НК	3,0 – 4,8 (ДНК) 2,3 – 3,7 (РНК)	1,8–1,9	0,04–0,1	РНК 100 % (P _{ист} = 92,1)
Примечания:	¹ Эффективность вычисляли путем оценки количества идентично воспроизведённых результатов ПЦР на выявление микроорганизмов, геномной ДНК и мРНК человека с учётом статистической неопределённости согласно Методическим рекомендациям по порядку проведения и экспертизы качества, эффективности и безопасности медицинских изделий ФГБУ ВНИИИМТ Росздравнадзора 2013 г. с доверительной вероятностью 90% по формуле: R _{ист} =0,1 ^{1/N} , где N – количество проведенных исследований.					

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р 52905-2007, 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 санитарно-эпидемиологических правил СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».

Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором 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 СП 1.3.2322-08.

К работе с набором реагентов допускается персонал, обученный правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

При работе следует надевать одноразовые перчатки без талька.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

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

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

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

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

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится ПЦР, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 15-30 минут.

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

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами СП 1.3.2322-08.

Отходы биоматериала (инфицированные или потенциально инфицированные), образцы после предобработки, пробоподготовки и ПЦР, 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».

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасных компонентов	Указание на риски	Меры безопасности
Комплектация 1			
Буфер ПК	Нет опасных веществ	-	-
Буфер ПК-НТ	Тритон Х-100	H302, H314, H319, H412	P264, P280, P301+P330+P312, P302+P352, P305+P351+P338, P273, P501
	Гуанидин тиоцианат	H302+ H312+ H332, H314, H318	P264, P280, P301+P330+P312, P302+P352, P260, P271, P273, P501
	Тиоглицерол	H312, H319, H332	P264, P280, P302+P352, P305+P351+P338, P260, P271, P501
Протеиназа К	Нет опасных веществ	-	-
Комплектация 2			
Буфер ПК	Нет опасных веществ	-	-
Протеиназа К	Нет опасных веществ	-	-
Расшифровка обозначений: H302: Вредно при проглатывании; H312: Вредно при попадании на кожу; H314: При попадании на кожу и глаза вызывает химические ожоги; H318: Вызывает серьезные повреждения глаз; H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение; H332: Вредно при вдыхании; H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями; H302+ H312+ H332: Опасно при проглатывании, при контакте с кожей или при вдыхании; P260: Не вдыхать пары; P264: После работы тщательно вымыть руки; P271: Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом месте; P280: Пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица; P301+P330+P312: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополоскать рот и обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии.; P302+P352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды; P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если Вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз; P273: Не допускать попадания в окружающую среду; P501: Удалить содержимое/упаковку в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.			

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 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 набор реагентов:

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

Примечание – Набор 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 набором реагентов требуются следующие оборудование и материалы:

- бокс биологической безопасности II класса;
- микроцентрифуга-вортекс;
- центрифуга с RCF 16 000 x g;
- гомогенизатор (при работе с нативными тканями);
- термостат с прижимной крышкой;
- холодильник с морозильной камерой;
- пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;
- дозаторы механические или электронные переменного объема одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 2,0 до 20 мкл, от 100 до 1000 мкл;
- штатив для дозаторов;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических пипеток, свободные от ДНКаз и РНКаз, объёмом 20 мкл, 1000 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- дезинфицирующий раствор;
- зерна для проведения гомогенизации диаметром 2,0-5,0 мм (при работе с нативными тканями);
- де-лимонен (при работе с парафинизированными тканями и в зависимости от способа удаления парафина);
- 96% перегнанный этиловый спирт (при работе с парафинизированными тканями и в зависимости от способа удаления парафина);
- набор/комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют образцы биологического материала человека: фиксированные в формалине парафинизированные ткани; нативные ткани; соскобы цервикального канала, взятые в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии.

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 СП 1.3.2322-08.

Для выделения РНК образцы нативных тканей рекомендуется фиксировать в специальных транспортных средах, предназначенных для транспортировки и стабилизации РНК в биопробах, обеспечивающих сохранность РНК.

6.2 Количество биоматериала для предобработки

6.2.1 Фиксированная в формалине парафинизированная ткань:

2-4 парафиновых среза толщиной 5,0 мкм (приблизительная площадь среза 0,5-1,5 см²). Парафиновые срезы помещают в сухие одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл.

6.2.2 Нативная ткань (включая биоптаты):

50-100 мг в пробирках с транспортной средой или средой для стабилизации РНК. Образцы нативной ткани могут быть представлены фрагментами толщиной 3,0-5,0 мм.

6.2.3 Соскобы в транспортно-фиксирующей среде для жидкостной цитологии: от 1,0 мл.

7 ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОБРАБОТКА БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ПРОБА-ПК

7.1 Общие рекомендации

- 7.1.1 Используйте наконечники, свободные от РНКаз и ДНКаз, с фильтром.
- 7.1.2 При добавлении реагентов в пробирку, содержащую биологический материал, аккуратно вносите раствор, не касаясь стенок пробирок. При касании стенки пробирки смените наконечник.
- 7.1.3 Наконечник следует менять при каждом переносе жидкости и при каждом удалении раствора из пробирки.
- 7.1.4 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить образец/реактив или из которой будете удалять надсадочную жидкость, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой.
- 7.1.5 Исследуемые образцы и отрицательный контрольный образец (К-) необходимо обрабатывать по единой схеме согласно данной инструкции.

ВНИМАНИЕ! Относительное ускорение центрифуги (RCF или g) зависит от частоты вращения и радиуса ротора (Приложение А). Для определения соответствия центрифуги заданным параметрам центрифугирования (см. раздел 5 «Оборудование и Материалы») обратитесь к руководству по эксплуатации.

- 7.2 Предобработка образцов срезов из парафиновых блоков тканей, фиксированных в формалине, без специального удаления парафина (без использования де-лимонена)
 - 7.2.1 Центрифугируйте пробирки с образцами при 13 000 x g в течение 30-60 с при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) для осаждения биоматериала на дно пробирки.
 - 7.2.2 Добавьте в промаркированные пробирки с образцами и в пустую одноразовую пробирку объемом 1,5 мл, промаркированную «К-», по 300 мкл буфера ПК.
 - 7.2.3 Встряхните пробирки с образцами в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
 - 7.2.4 Центрифугируйте пробирки с образцами в течение 60 с на микроцентрифуге-вортексе для погружения срезов в жидкость.
 - 7.2.5 Инкубируйте пробирки с образцами при температуре 72 °C в течение 10 мин. За время инкубации необходимо аккуратно встряхнуть пробирки 2-3 раза в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе, не допуская залипания ткани на стенках пробирки.
 - 7.2.6 Центрифугируйте пробирки в течение 60 с на микроцентрифуге-вортексе.

- 7.2.7 Встряхните пробирку с протеиназой К на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и осадите капли со стенок пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.2.8 Добавьте во все пробирки с образцами по 5,0 мкл протеиназы К, проткнув слой парафина наконечником. Внесите протеиназу К под парафин, непосредственно в реакционную смесь, содержащую буфер ПК, и перемешайте смесь пипетированием.
- 7.2.9 Инкубируйте пробирки:
- 7.2.9.1 Для получения РНК инкубируйте пробирки с образцами при температуре 60 °С в течение 30 мин, далее при температуре 80 °С в течение 10 мин.
- 7.2.9.2 Для получения ДНК инкубируйте пробирки с образцами при 60 °С в течение 2 часов. При избытке биоматериала время инкубации может быть увеличено до 24 часов, например, образцы можно оставить в термостате на ночь. При увеличении времени инкубации по истечении 2-3 часов можно добавить в пробирки с образцами дополнительный объем (по 5,0 мкл) протеиназы К. Далее инкубируйте пробирки с образцами при 95 °С в течение 10 мин.

ВНИМАНИЕ! Во время инкубации при 60 °С необходимо встряхнуть пробирки с образцами 1-2 раза в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе, не допуская залипания ткани на стенках пробирки. При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Рекомендуется использовать пробирки с защелкой и/или термостаты с прижимной крышкой (например, ТТ-1-«ДНК-Техн.» производства ООО «НПО ДНК-Технология»). Предварительный прогрев термостата не требуется. Оба температурных режима могут быть запрограммированы в одном термостате.

- 7.2.10 Центрифугируйте пробирки с образцами при 16 000 x g в течение 60 с при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).
- Сверху над образцами образуется слой парафина, снизу могут оставаться остатки дебриса (осадок).
- 7.2.11 Извлеките из-под парафина, не захватывая осадок, необходимый объем лизата, соответствующий объему образца для выделения, перенесите его в одноразовую промаркированную пробирку.
- 7.2.12 Далее проведите выделение нуклеиновых кислот в соответствии с инструкцией к набору/комплекту реагентов для выделения нуклеиновых кислот. С учетом предварительной обработки образцов время лизиса может быть сокращено до 5 минут.

Примечание – Для последующего использования остатки образца допустимо хранить при

температуре минус 20°C в течение месяца.

- 7.3 Предобработка образцов срезов из парафиновых блоков тканей, фиксированных в формалине, с использованием де-лимонена.
- 7.3.1 Центрифугируйте пробирки с образцами при 13 000 x g в течение 30-60 с при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C) для осаждения биоматериала на дно пробирки.
- 7.3.2 Добавьте в промаркированные пробирки с образцами фиксированных в формалине парафинизированных тканей по 1,0 мл де-лимонена, встряхните пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.3.3 Инкубируйте пробирки при температуре 50 °C в течение 5 мин. За время инкубации необходимо аккуратно встряхнуть пробирки 1-2 раза в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.3.4 Центрифугируйте пробирки при 13 000 x g в течение 60 с при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C).
- 7.3.5 Удалите супернатант.
- 7.3.6 Добавьте в пробирки с образцами по 1,0 мл 96% перегнанного этанола, встряхните пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.3.7 Центрифугируйте пробирки при 13 000 x g в течение 60 с при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C).
- 7.3.8 Удалите супернатант.
- 7.3.9 Добавьте в пробирки с образцами по 1,0 мл 96% перегнанного этанола, встряхните пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.3.10 Центрифугируйте пробирки при 13 000 x g в течение 60 с при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C).
- 7.3.11 Удалите супернатант.
- 7.3.12 Оставьте пробирки открытыми и высушите осадок в течение 30-45 мин при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C).
- 7.3.13 Добавьте в промаркированные пробирки с образцами и в пустую одноразовую пробирку объемом 1,5 мл, промаркированную «К-», по 200 мкл буфера ПК.
- 7.3.14 Встряхните пробирки с образцами в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.3.15 Центрифугируйте пробирки с образцами в течение 60 с на микроцентрифуге-вортексе для погружения биоматериала в жидкость.
- 7.3.16 Встряхните пробирку с протеиназой К в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе

и осадите капли со стенок пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.3.17 Добавьте во все пробирки с образцами по 5,0 мкл протеиназы К. Внесите протеиназу К непосредственно в реакционную смесь, содержащую буфер ПК, перемешайте смесь пипетированием.

7.3.18 Инкубируйте пробирки:

7.3.18.1 Для получения РНК инкубируйте пробирки с образцами при температуре 60 °С в течение 30 мин, далее при температуре 80 °С в течение 10 мин.

7.3.18.2 Для получения ДНК инкубируйте пробирки с образцами при 60 °С в течение 2 часов. При избытке биоматериала время инкубации может быть увеличено до 24 часов, например, образцы можно оставить в термостате на ночь. При увеличении времени инкубации по истечении 2-3 часов можно добавить в пробирки с образцами дополнительный объем (по 5,0 мкл) протеиназы К. Далее инкубируйте пробирки с образцами при 95 °С в течение 10 мин.

ВНИМАНИЕ! Во время инкубации при 60 °С необходимо встряхнуть пробирки с образцами 1-2 раза в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе, не допуская залипания ткани на стенках пробирки. При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Рекомендуется использовать пробирки с защелкой и/или термостаты с прижимной крышкой (например, ТТ-1-«ДНК-Техн.» производства ООО «НПО ДНК-Технология»). Предварительный прогрев термостата не требуется. Оба температурных режима могут быть запрограммированы в одном термостате.

7.3.19 Центрифугируйте пробирки с образцами при 16 000 x g в течение 60 с при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

В пробирках с образцами могут оставаться остатки дебриса (осадок).

7.3.20 Не захватывая осадок, отберите необходимый объем лизата, соответствующий объему образца для выделения, перенесите его в одноразовую промаркированную пробирку.

7.3.21 Далее проведите выделение нуклеиновых кислот в соответствии с инструкцией к набору/комплекту реагентов для выделения нуклеиновых кислот. С учетом предварительной обработки образцов время лизиса может быть сокращено до 5 минут.

Примечание – Для последующего использования остатки образца допустимо хранить при температуре минус 20°С в течение месяца.

- 7.4 Предобработка образцов нативной ткани.
- 7.4.1 Центрифугируйте промаркированные пробирки с образцами нативной ткани в транспортной среде в течение 60 с на микроцентрифуге-вортексе. Полностью удалите транспортную среду.
- 7.4.2 Добавьте в промаркированные пробирки с образцами тканей по 400 мкл буфера ПК-НТ и 3-5 зерен для гомогенизации, проведите гомогенизацию.
- 7.4.3 Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение 60 с при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C).
- 7.4.4 Распипетируйте и перенесите в пустые промаркированные одноразовые пробирки объемом 1,5 мл по 200 мкл гомогената.
- 7.4.5 Внесите в пустую одноразовую пробирку объемом 1,5 мл, промаркированную «К-», 200 мкл буфера ПК-НТ.
- 7.4.6 Встряхните пробирку с протеиназой К в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе, затем центрифугируйте в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.4.7 Добавьте во все пробирки с образцами по 5,0 мкл протеиназы К.
- 7.4.8 Мягко, не допуская разбрызгивания, встряхните пробирки в течение 1-2 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.4.9 Инкубируйте образцы при 60°C в течение 30 мин, далее при 95°C в течение 10 мин.
- ВНИМАНИЕ!** При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Рекомендуется использовать пробирки с защелкой и/или термостаты с прижимной крышкой (например, ТТ-1-«ДНК-Техн.» производства ООО «НПО ДНК-Технология»). Предварительный прогрев термостата не требуется. Оба температурных режима могут быть запрограммированы в одном термостате.
- 7.4.10 Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение 60 с при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C).
- 7.4.11 Перенесите в пустые промаркированные пробирки, не захватывая снизу осадок, необходимый объем лизата, соответствующий объему образца для выделения, и проведите выделение нуклеиновых кислот в соответствии с инструкцией к набору/комплекту реагентов для выделения нуклеиновых кислот.

Примечание – Для последующего использования остатки образца допустимо хранить при температуре минус 20°C в течение месяца.

- 7.5 Предварительная обработка образцов соскобов цервикального канала, взятых в транспортно-фиксирующую среду для жидкостной цитологии, для последующего выделения ДНК.
- 7.5.1 Промаркируйте для каждого исследуемого образца и отрицательного контрольного образца «К-» по одной одноразовой пробирке объёмом 1,5 мл
- 7.5.2 Перемешайте пипетированием содержимое ёмкости с биоматериалом в консервирующей жидкости, перенесите в промаркированную одноразовую пробирку 1,0-1,4 мл биоматериала в консервирующей жидкости.
- 7.5.3 Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение 5 мин при комнатной температуре (от 18 °C до 25 °C).
- 7.5.4 Не задевая осадок, полностью удалите надосадочную жидкость (отдельным наконечником для каждой пробирки).
- 7.5.5 Встряхните пробирки с буфером ПК и протеиназой К в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.
- 7.5.6 Приготовьте лизирующую смесь. Для этого смешайте в отдельной пробирке:
- 100 × (N+1) мкл буфера ПК,
 - 3,0 × (N+1) мкл протеиназы К,
- где N – количество промаркированных пробирок.
- 7.5.7 Добавьте в каждую из пробирок с биоматериалом (см. 7.5.3), а также в пробирку, маркированную «К-», по 100 мкл лизирующей смеси, встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с.
- 7.5.8 Термостатируйте пробирки при 55 °C в течение 1 часа, затем при 95 °C в течение 10 мин.

ВНИМАНИЕ! Во время инкубации при 55 °C необходимо встряхнуть пробирки с образцами 1-2 раза в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе, не допуская залипания ткани на стенках пробирки. При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Рекомендуется использовать пробирки с защелкой и/или термостаты с прижимной крышкой (например, ТТ-1-«ДНК-Техн.» производства ООО «НПО ДНК-Технология»). Предварительный прогрев термостата не требуется. Оба температурных режима могут быть запрограммированы в одном термостате.

- 7.5.9 Осадите капли центрифугированием в течение 3-5 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.5.10 Перенесите в пустые одноразовые промаркированные пробирки объемом 1,5 мл необходимый объем лизата, соответствующий объему образца для выделения.

Примечание - Если объем образца для выделения соответствует 100 мкл, при отсутствии осадка можно провести выделение, не перенося образец в другую пробирку.

7.5.11 Далее проведите выделение нуклеиновых кислот в соответствии с инструкцией к набору/комплекту реагентов для выделения нуклеиновых кислот. С учетом предварительной обработки образцов время лизиса может быть сокращено до 5 минут.

Примечание – Для последующего использования остатки образца допустимо хранить при температуре минус 20 °С в течение месяца.

8 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

8.1 Транспортирование

- 8.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри контейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.
- 8.1.2 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8.2 Хранение

- 8.2.1 Протеиназу К следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 8.2.2 Буфер ПК, буфер ПК-НТ следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 8.2.3 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

8.3 Указания по эксплуатации

- 8.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.
- 8.3.2 Необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.
- 8.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:
- протеиназу К следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
 - буфер ПК, буфер ПК-НТ следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 8.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

9 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

- 9.1 При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684 и МУ 1.3.2569.
- 9.2 Изделия, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684.

10 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

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

11 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

Набор реагентов предназначен для однократного использования и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

12 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон		Каталожный номер
	Количество тестов		Адрес изготовителя
	Годен до		Не стерильно
	Серия набора реагентов		Одноразовое использование
	Дата изготовления		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению

13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ 2.105-95 Общие требования к текстовым документам.

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.

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

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

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний.

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения.

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

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2014 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Ч.1. Основные требования.

ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003) Лаборатории медицинские. Требования безопасности.

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

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

По вопросам качества набора реагентов ПРОБА-ПК следует обращаться по адресу:
ООО «ДНК-Технология», 117587, г. Москва, Варшавское шоссе, д. 125 ж, к.6., этаж 5, ком. 14,
тел./факс +7 (495) 640-17-71, www.dna-technology.ru

Служба клиентской поддержки:

8 (800) 200-75-15 (звонок по России бесплатный),

+7(495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный),

E-mail: hotline@dna-technology.ru

Старший научный сотрудник
ООО «НПФ ДНК-Технология»
д.б.н.

СОГЛАСОВАНО
Директор ФГБУ «НМИЦ АГП
им. В.И. Кулакова» Минздрава России,
академик РАН, профессор



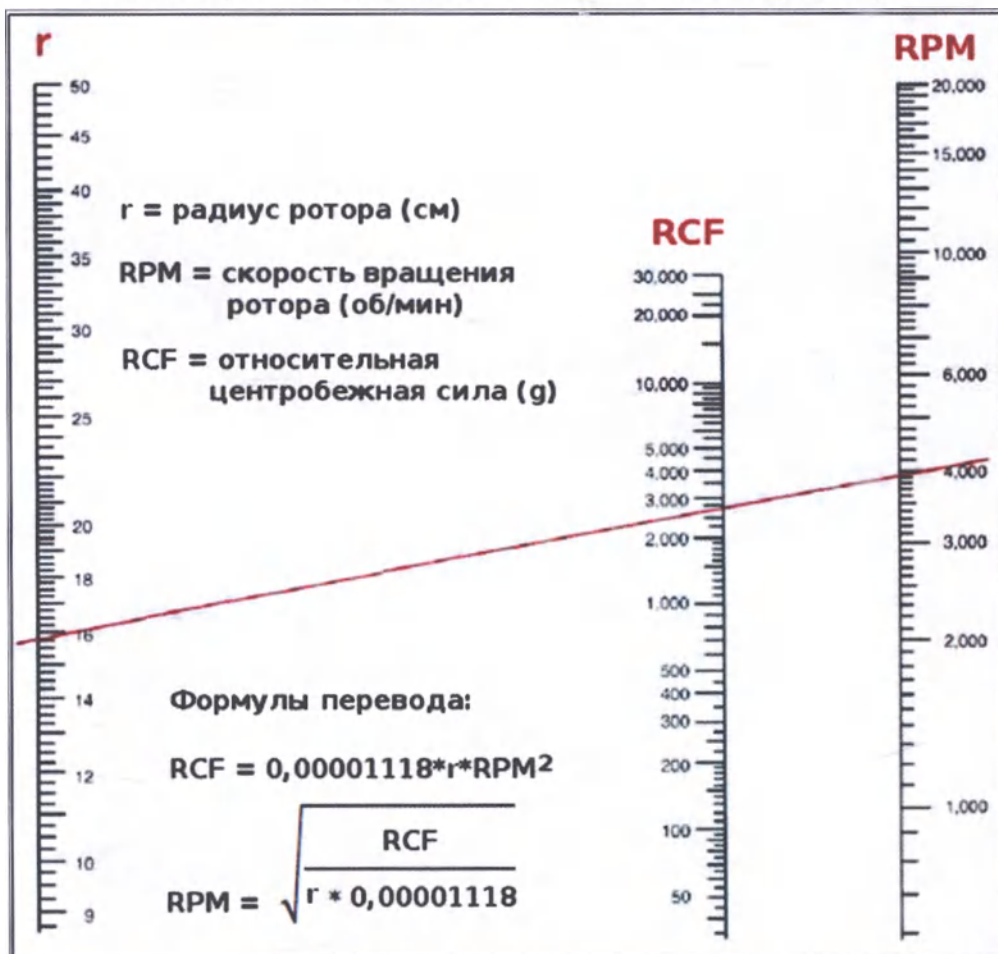
О.В. Бурменская
«04» 03 2021 г.

Г.Т. Сухих
«29» 03 2021 г.

Приложение А

(справочное)

Номограмма и формула перевода относительного ускорения центрифуги (RCF) в скорость вращения (RPM) в зависимости от диаметра ротора



Пронумеровано, прошито и
скреплено печатью на 24

двадцати четырех листах



Зав. центра и научн
и клиническ исследовани
доцент организации
ФГБУ "НМИЦ им. В.И. Кулакова"

Е.А. Гароднова