

Организация-производитель

СОГЛАСОВАНО

Генеральный директор

ООО «ДНК-Технология ТС»



С.А. Самарин

« ДКС » сентябрь 2021 г.

Организация-разработчик

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НПФ ДНК-Технология»



С.П. Левичев

2021 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**Набор реагентов для выделения ДНК человека из сухих пятен крови
(ПРОБА-ЦИТО СП)**

2021 г.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	- нуклеиновые кислоты
К-	- отрицательный контрольный образец
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
СП	- сухие пятна крови
ЭДТА	- этилендиаминтетраацетат

ВВЕДЕНИЕ

Метод «сухого пятна» получил распространение в медицинской лабораторно-исследовательской практике с 60-70-х годов прошлого века благодаря появлению теста Гатри, основанного на применении образцов сухой капиллярной крови для диагностики фенилкетонурии у новорожденных [1].

Технология «сухого пятна» заключается в нанесении капли крови пациента на фильтровальную бумагу, просушивании пятна в течение нескольких часов при комнатной температуре, использовании образца для клиничко-лабораторных исследований или хранения. В настоящее время технология «сухого пятна» широко применяется при проведении неонатального скрининга, а также эпидемиологических скринингах у новорожденных, детей и взрослых [2].

Кроме того, сухие пятна крови используют для ДНК-диагностики, в том числе в генетическом скрининге частых наследственных заболеваний (таких как фенилкетонурия, муковисцидоз, галактоземия и т.д.) у новорожденных [3].

Для получения геномной ДНК сухую кровь элюируют с фрагмента бумаги, обрабатывают реагентами с целью высвобождения ДНК из клеточной фракции и используют для анализа.

К преимуществам использования сухих пятен крови для исследований можно отнести: простоту получения, отсутствие особых требований к условиям транспортировки, продолжительные сроки хранения [4]. Архивы образцов СП существенно компактнее коллекций образцов венозной крови в пробирках.

Список литературы

1. Guthrie, R. A simple method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants / R. Guthrie, A. Susi // *Pediatric*. – 1963. – Vol. 32. – P. 338–343.
2. ГОСТ Р 55992.2-2014. Изделия медицинские для диагностики *in vitro* для флюоресцентного и иммунофлюоресцентного анализа «сухого пятна» крови новорожденного. Часть 2. Расходные материалы (наборы реагентов) для флюоресцентного и иммунофлюоресцентного анализа «сухого пятна» крови новорожденного. – введ. 01.06.2015. – М.: Стандартинформ, 2014. – 24 с.

3. Kenner, C., Lewis JA, Pressler JL, Little CM. Neonatal genetic testing is more than screening / C. Kenner, J.A. Lewis, J.L. Pressler, C.M. Little // Crit Care Nurs Clin North Am. – 2008. – Vol. 20, № 2. – P. 233-7.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Blood Collection on Filter Paper for Newborn Screening Programs. Approved Standard – Fourth Edition, CLSI Document LA4-A4. – CLSI, Wayne, Pennsylvania, 2003. – Vol. 23, № 21. – P. 19087-1898.

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 **Назначение:** Набор реагентов предназначен для выделения геномной ДНК человека из сухих пятен крови для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

1.2 **Функциональное назначение изделия:** Изделие является вспомогательным средством в клинической лабораторной диагностике и предназначено для диагностики *in vitro* (выделения геномной ДНК человека из сухих пятен крови для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции).

1.3 **Применение медицинского изделия** не зависит от популяционных и демографических аспектов.

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

1.5 **Потенциальные пользователи:** квалифицированный персонал, осуществляющий взятие и предобработку клинического материала, а также специалисты, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинικο-диагностической лаборатории в установленном порядке.

1.6 Противопоказаний к применению нет.

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

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

Набор реагентов для выделения ДНК человека из сухих пятен крови (ПРОБА-ЦИТО СП) (далее по тексту набор реагентов) выпускается в фасовке для ручного дозирования (маркируется – фасовка N) и включает следующие компоненты:

REF P-029-N/2, фасовка N			
Компоненты набора	Внешний вид	Количество флаконов\пробирок	Номинальный объем
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	20 мл
Нейтрализующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	400 мкл
Промывочный раствор Н	Прозрачная бесцветная жидкость	2 флакона	по 35 мл
Промывочный раствор СК	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	1 флакон	35 мл

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 выделение ДНК из 50 анализируемых образцов (включая отрицательные контрольные образцы).

2.3 Принцип метода

Метод: щелочной лизис клеток.

Принцип метода заключается в щелочном лизисе клеток, происходящем в ходе термического инкубирования. Удаление возможных примесей и снятие крови с носителя происходит на этапе предварительных отмывок.

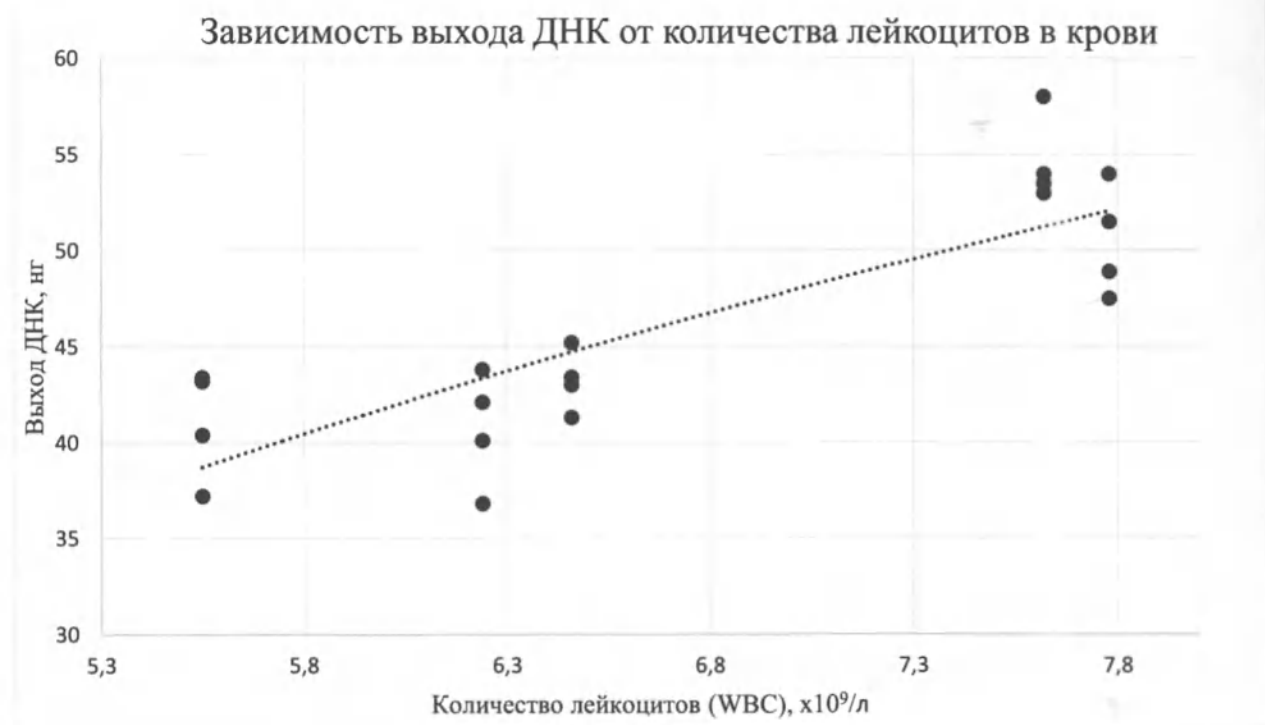
2.4 Время проведения выделения ДНК: от 40 минут. Время выделения зависит от количества образцов в постановке.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Рекомендуемое количество биоматериала, из которого может быть выделена ДНК: три бумажных диска сухого пятна крови диаметром 3,0 мм.

Количество ДНК в 100 мкл препарата, выделенном из трех дисков сухого пятна крови диаметром 3,0 мм: 30 – 140 нг. (Количество выделенной ДНК зависит от количества лейкоцитов в образце).

Выход ДНК (эффективность) составляет от 41,1 нг до 54,6 нг при выделении из 10 мкл крови, высушенной на трех дисках фильтровальной бумаги, при различном содержании лейкоцитов в крови от $5,5 \times 10^9/\text{л}$ до $7,78 \times 10^9/\text{л}$. (см. график ниже).



Интерферирующие вещества:

Выделение ДНК может проводиться из пятен венозной или капиллярной крови, нанесенных на тест-бланк, изготовленный из фильтровальной бумаги Whatman 903 или аналогичной по своим свойствам.

Целлюлозное волокно и остаточные количества химических компонентов пропитки и разметки рекомендованной фильтровальной бумаги, остающиеся в образце ДНК в

результате неполного удаления в ходе пробоподготовки, не влияют на результаты ПЦР исследования.

Медицинские изделия, для которых предназначен набор реагентов:

Набор реагентов для выделения ДНК человека из сухих пятен крови (ПРОБА-ЦИТО СП) может быть использован совместно с изделиями, предназначенными для анализа ДНК человека методом ПЦР и зарегистрированных в установленном порядке в Российской Федерации.

Эффективность набора реагентов ПРОБА-ЦИТО СП установлена в ходе проведения клинических испытаний путем оценки результатов генотипирования с использованием набора реагентов «МоногенСкрин» по 30 исследуемым локусам.

Количество исследованных образцов сухих пятен крови (N) – 55, для 100% образцов получены валидные воспроизводимые результаты (95% ДИ: 99,89-100%).

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Подготовка к выделению ДНК и выделение ДНК из образцов биологического материала должны проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические ПЦР исследования клинического материала с соблюдением требований 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 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

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 только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки. Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

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

Все лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

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

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.

Поверхности рабочих столов, а также помещений, в которых проводится выделение НК и постановка 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.

При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые 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 комплекта	Опасный компонент	Указание на риски	Меры безопасности
Лизирующий раствор	NaOH	H302, H315, H319	P280, P301+P330+P312, P302+P352, P305+P351+P338, P308+P313, P501
Нейтрализующий раствор	Нет опасных веществ	-	-
Промывочный раствор Н	Нет опасных веществ	-	-
Промывочный раствор СК	NaOH	H302, H315, H319	P280, P301+P330+P312, P302+P352, P305+P351+P338, P308+P313, P501
	Тритон Х-100	H302, H314, H319, H412	P264, P280, P301+P330+P312, P302+P352, P305+P351+P338, P273, P501
Расшифровка обозначений: H302: Вредно при проглатывании; H314: При попадании на кожу и глаза вызывает химические ожоги; H315: Вызывает раздражение кожи; H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение; H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями; P264: После работы тщательно вымыть руки; 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; P308+P313: ПРИ оказании воздействия или обеспокоенности: Обратиться к врачу; 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 слизистой оболочкой, 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 допускается использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;

- при несоответствии внешнего вида компонентов, указанного в паспорте к набору реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора реагентов;
- по истечению срока годности набора.

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 требуются следующие оборудование и материалы:

- бокс биологической безопасности II класса;
- микроцентрифуга-вортекс;
- центрифуга для пробирок объёмом 1,5 мл, с RCF более 16000 x g (соответствует 13000 об/мин на центрифуге Heraeus Pico 17 или аналогичной);
- термостат твердотельный с прижимной крышкой, поддерживающий температуру 90 °С (например, ТТ-1- «ДНК-Техн.» ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, или аналогичный), и пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, или термостат твердотельный, поддерживающий температуру 90 °С (например, ТТ-2 «Термит» ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, или аналогичный), и пробирки объёмом 1,5 мл с защёлкивающимися крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз, например, Eppendorf Safe-Lock Tubes;
- холодильник;
- штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл;
- 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 ДНКаз и РНКаз, объёмом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- электрический лабораторный аспиратор с колбой - «ловушкой»;
- одноразовые наконечники без фильтра для аспиратора, свободные от ДНКаз и РНКаз, объёмом 200 мкл;
- перфоратор для получения бумажных дисков диаметром 3,0-3,2 мм из сухих образцов крови;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- дезинфицирующий раствор.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для исследования

Для исследования используют сухие пятна крови.

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.

6.2 Общие требования к взятию материала на исследование

6.2.1 Взятие образцов крови у пациентов, последующее изготовление сухих пятен, их транспортировка и хранение проводится в соответствии с Инструкциями производителей к фильтровальным бумажным тест-бланкам, рекомендованным для этого.

6.2.2 Выделение ДНК может проводиться из пятен, полученных из нативной капиллярной крови или венозной крови, предварительно набранной в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 2,0 или 4,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта соли этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия (если это не противоречит требованиям к ПЦР-набору, используемому совместно с набором реагентов ПРОБА-ЦИТО СП). Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо плавно перевернуть пробирку не менее 8-10 раз.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

Ограничение метода:

внутривенные инъекции гепарина, инфузии препаратов для парентерального питания – менее чем за 6 часов до исследования.

6.2.3 Кровь наносится на бумажный носитель в количестве, достаточном для получения пятна диаметром не менее 1 см, при этом кровь должна пропитать бумагу насквозь. После нанесения образца, тест-бланк высушивается в горизонтальном положении на чистой обезжиренной поверхности не менее 2 часов без применения дополнительной тепловой обработки и попадания прямых солнечных лучей.

6.2.4 Для проведения исследования СП необходимо вырезать бумажные диски при помощи перфоратора – пробойника для получения бумажных дисков или аналогичного оборудования согласно Инструкции производителя.

6.3 Подготовка к выделению ДНК из сухих пятен крови

6.3.1 Промаркируйте по одной одноразовой пластиковой пробирке объёмом 1,5 мл для каждого пациента (исследуемого образца) и для отрицательного контрольного образца (К-).

6.3.2 Выбейте с помощью перфоратора бумажный диск из соответствующим образом подготовленного сухого пятна крови (см. 6.2.3, 6.2.4). Для каждого пациента для исследования необходимо выбить три диска диаметром 3,0 мм (допускается использование трех дисков диаметром 3,2 мм).

ВНИМАНИЕ! Выбитые диски должны быть полностью пропитаны кровью. Рекомендуется вырезать диски из центральной области пятна, не захватывая область ограничивающей краски.

Примечание – Перед выбиванием каждого нового образца СП рекомендуется сделать 2-3 высечки на чистом участке фильтровальной бумаги, что позволит снизить риск контаминации нового образца фрагментами от предыдущих высечек.

6.3.3 Поместите выбитые диски (3 шт. для каждого пациента) в промаркированные пробирки объёмом 1,5 мл для исследуемых образцов, закройте крышки.

Примечание – Рекомендуется выбивать диски непосредственно перед проведением процедуры выделения ДНК.

6.3.4 По завершении процедуры выбивания дисков проведите обработку лезвия перфоратора согласно инструкции к нему.

6.4 Транспортирование и хранение исследуемого материала

Для предотвращения загрязнения и перекрёстной контаминации тест бланки с пятнами крови после просушивания индивидуально упаковываются. Хранение тест бланков с образцами сухой крови до года допустимо в условиях низкой влажности (не более 30%) при температуре от 2 °С до 8 °С. При более длительных сроках хранения образцы сухих пятен крови следует хранить как рекомендует производитель тест-бланков.

Допускается транспортирование образцов сухих пятен на тест бланках в индивидуальных упаковках в условиях низкой влажности (не более 30%) при температуре до 25 °С не более 5 суток.

7 ПРОЦЕДУРА ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

7.1 Общие рекомендации

7.1.1 Манипуляции с СП должны проводиться с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил аналогично образцам, содержащим кровь и другие биологические жидкости.

7.1.2 На этапах подготовки биоматериала и выделения из него ДНК используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

7.1.3 Наконечники следует менять при каждом удалении раствора из пробирки.

7.1.4 При добавлении реагентов в пробу, содержащую биологический материал, аккуратно вносите раствор, не касаясь стенок пробирок. При касании стенки пробирки смените наконечник.

7.1.5 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, с которой проводятся манипуляции, и закрывайте ее перед работой со следующей пробиркой.

7.1.6 Исследуемые образцы и отрицательный контрольный образец (К-)¹ необходимо обрабатывать по единой схеме согласно данной инструкции.

7.2 Выделение ДНК

7.2.1 Добавьте во все промаркированные пробирки с выбитыми дисками (см. 6.3.3) и в пробирку для отрицательного контрольного образца (К-) по 1400 мкл промывочного раствора Н.

7.2.2 Тщательно перемешайте содержимое пробирок в течение 10-20 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ! Бумажные диски должны оставаться в жидкости и не слипаться.

7.2.3 Поместите пробирки в горизонтальное положение и инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) 5 мин. За время инкубации необходимо перемешать содержимое пробирок 2-3 раза в течение 10-20 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.4 Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение 5 минут.

ВНИМАНИЕ! Относительное ускорение центрифуги (RCF или g) зависит от частоты вращения и радиуса центрифугирования (Приложение А). Для определения соответствия

¹ В качестве отрицательного контрольного образца используется пустая пробирка, не содержащая образец биологического материала (выбитые диски сухого пятна крови).

центрифуги заданным параметрам центрифугирования (см. раздел 5 «Оборудование и материалы») обратитесь к руководству по эксплуатации.

7.2.5 Отберите надосадочную жидкость, не упираясь наконечником в диски и оставив в пробирке 5,0 – 10 мкл жидкости. Не извлекайте диски из пробирки.

7.2.6 Добавьте во все пробирки по 500 мкл промывочного раствора СК.

7.2.7 Тщательно перемешайте содержимое пробирок в течение 10-20 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.8 Поместите пробирки в горизонтальное положение и инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) 1-2 мин. За время инкубации 2-3 раза перемешайте содержимое пробирок в течение 10-20 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.9 Центрифугируйте пробирки 5 минут при 16 000 x g.

7.2.10 Отберите надосадочную жидкость, не упираясь наконечником в диски. Не извлекайте диски из пробирки.

7.2.11 Добавьте во все пробирки по 100 мкл лизирующего раствора.

7.2.12 Тщательно перемешайте содержимое пробирок в течение 10-20 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ! Бумажные диски должны промыться лизирующим раствором и не слипаться.

7.2.13 Осадите капли с крышек пробирок в течение 5-10 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.2.14 Поместите пробирки в предварительно прогретый до 90 °С термостат на 20 минут.

ВНИМАНИЕ! При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Рекомендуется использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.», производства ООО «НПО ДНК-Технология»).

7.2.15 Остудите пробирки на столе до комнатной температуры (от 18 °С до 25 °С) в течение 2-3 мин или используйте для термостата программу с охлаждением до комнатной температуры.

7.2.16 Для осаждения конденсата с крышек центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение 30 с.

7.2.17 Добавьте во все пробирки по 2 мкл нейтрализующего раствора.

7.2.18 Тщательно перемешайте содержимое пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 10 с.

7.2.19 Центрифугируйте пробирки при 16 000 x g в течение 30 с.

Препарат ДНК готов к применению.

Препарат ДНК следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С до 30 суток, при температуре от минус 18 °С до минус 22 °С не более 6 месяцев.

Перед использованием препарата ДНК для постановки ПЦР после хранения следует повторить пункты 7.2.18 -7.2.19.

Если препараты ДНК хранились от минус 18 °С до минус 22 °С, то их следует разморозить при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Допускается только однократное размораживание препарата ДНК!

7.3 Модификация выделения ДНК

При несоблюдении рекомендаций к взятию крови, транспортировке и хранению сухих пятен крови, технологических нарушений при выделении ДНК – возможно снижение эффективности или отсутствие прохождения ПЦР. В этом случае рекомендуется проведение повторного выделения ДНК.

7.3.1 Промаркируйте по одной пробирке объёмом 1,5 мл для каждого образца, требующего повторного выделения ДНК, и для отрицательного контрольного образца (К-).

7.3.2 Выберите три диска диаметром 3,0 мм (допускается использование трех дисков диаметром 3,2 мм.) из сухого пятна крови. Выбитые диски поместите в одноразовые пластиковые пробирки объёмом 1,5 мл для образцов, требующих повторного выделения ДНК, закройте крышки пробирок.

7.3.3 Добавьте во все пробирки по 1400 мкл промывочного раствора Н.

7.3.4 Тщательно перемешайте содержимое пробирок в течение 10-20 с на микроцентрифуге-вортексе.

ВНИМАНИЕ! Бумажные диски должны оставаться в жидкости и не слипаться.

7.3.5 Поместите пробирки в горизонтальное положение и инкубируйте при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) 10 мин. За время инкубации 2-3 раза перемешайте содержимое пробирок в течение 10-20 с на микроцентрифуге-вортексе.

7.3.6 Центрифугируйте пробирки при 16000 x g в течение 5 минут.

7.3.7 Отберите надосадочную жидкость, не упираясь наконечником в диски и оставив в пробирке 5,0 – 10 мкл жидкости. Не извлекайте диски из пробирки.

7.3.8 Добавьте во все пробирки по 1000 мкл промывочного раствора СК.

7.3.9 Далее проведите манипуляции из п.п.7.2.6-7.2.18.

Примечание - Если на преаналитическом этапе были допущены серьезные нарушения, то может потребоваться повторное взятие крови для изготовления СП и/или выделение ДНК из венозной крови.

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, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора, в течение всего срока годности или в термоконтейнерах с хладоэлементами при температуре внутри контейнера от 2 °С до 25 °С не более 7 суток.

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

8.2 Хранение

8.2.1 Набор реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

8.2.2 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 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.

8.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:

- компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора.

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 in vitro		Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон		Каталожный номер
	Количество тестов		Адрес изготовителя
	Годен до		Не стерильно
	Серия набора		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 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 ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования.

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, касающимся качества набора реагентов для выделения ДНК человека из сухих пятен крови (ПРОБА-ЦИТО СП), 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»
к.б.н.

Л.В. Артемова

« 01 » 04 2021 г.

СОГЛАСОВАНО

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

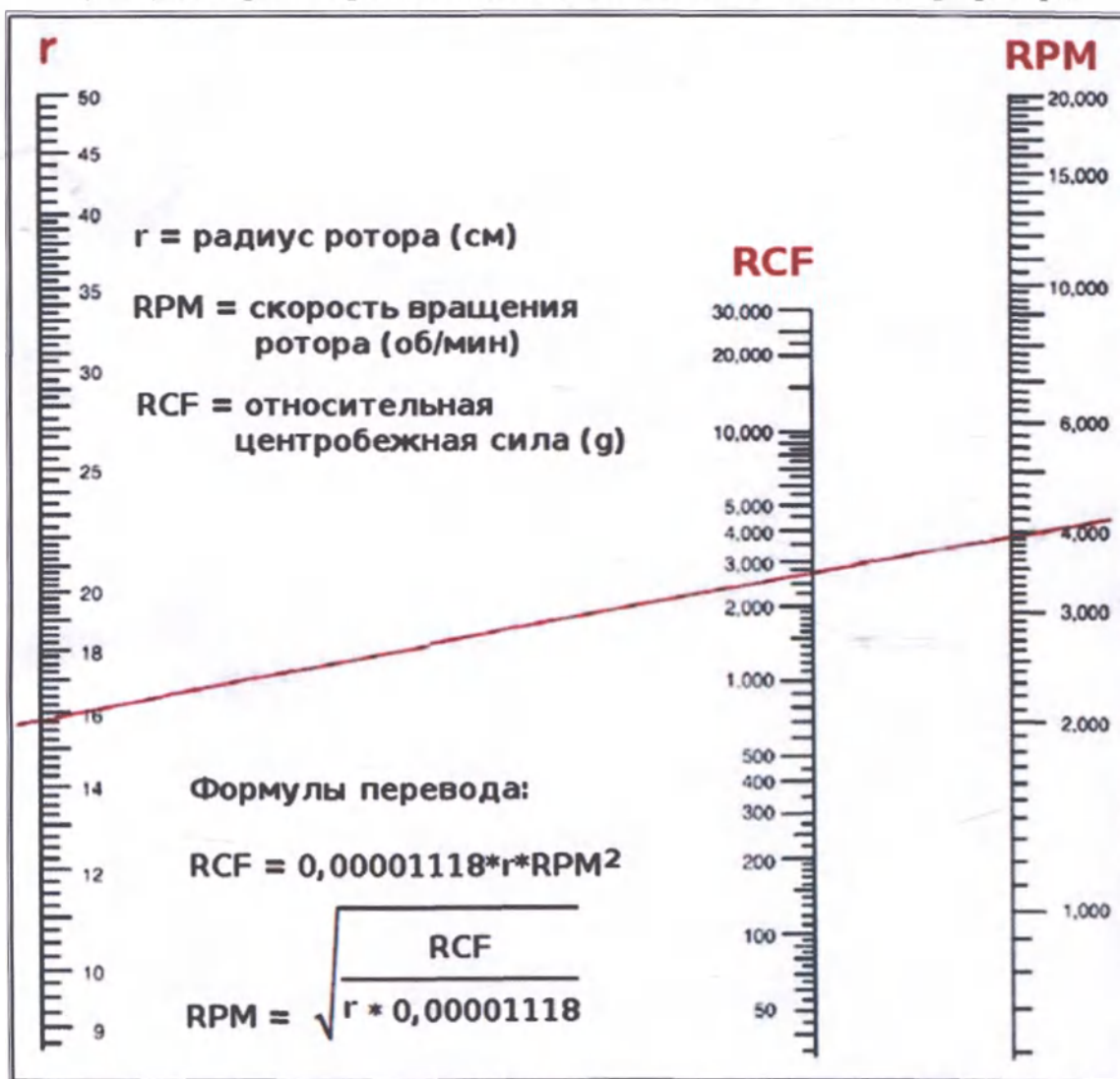
Г.Т. Сухих

24 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 23

Зверева Е. А. листах

Заверенной печатью
научных исследований

