

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»



М. Е. Сенина

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ ДНК ЧЕЛОВЕКА
ИЗ СУХИХ ПЯТЕН КРОВИ И ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ
«МАГНОПРАЙМ® DRYSPOT»
ПО ТУ 21.20.23-219-09286667-2023

Инструкция по применению версии 09.01.24-1

Лист утверждения

Набор реагентов для экстракции ДНК человека
из сухих пятен крови и цельной крови
«МагноПрайм® DrySpot» по ТУ 21.20.23-219-09286667-2023

МагноПрайм® DrySpot

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2,
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru



ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	3
1. НАЗНАЧЕНИЕ	4
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	4
2.1. Состав и комплектность	4
2.2. Принцип метода.....	5
2.3. Техническое обслуживание и ремонт	5
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	5
3.1.Отрицательный и положительный контроли экстракции ДНК	5
3.2. Контроль ингибирования.....	5
3.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации.....	6
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА.....	6
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ	7
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	9
6.1. Взятие исследуемого материала.....	9
6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала.....	9
6.3. Автоматическая методика экстракции ДНК	10
6.4. Ручная методика экстракции ДНК.....	10
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	11
7.1. Сухие пятна крови.....	11
7.2. Цельная кровь	11
8. ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.....	12
8.1. Предварительная подготовка исследуемого материала (только для сухих пятен крови)	12
8.2. Автоматическая методика экстракции	12
8.3. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива.....	14
8.4. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования.....	16
8.5. Хранение очищенной ДНК	18
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	18
9.1. Чистота экстрагированной ДНК.....	18
9.2. Влияние интерферирующих веществ и ДНК человека.....	18
10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА	19
10.1. Срок годности.....	19
10.2. Транспортирование	19
10.3. Хранение.....	19
11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	19
12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	20

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВКО	–	внутренний контрольный образец
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаз	–	дезоксирибонуклеаза
НК	–	нуклеиновые кислоты
ОКО	–	отрицательный контрольный образец экстракции
ПКО	–	положительный контрольный образец
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
РУ	–	регистрационное удостоверение
ТУ	–	технические условия
ДНК-карта (FTA-карта)	–	карта для сбора образцов биоматериала

НАИМЕНОВАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов для экстракции ДНК человека из сухих пятен крови и цельной крови «МагноПрайм® DrySpot» по ТУ 21.20.23-219-09286667-2023.

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «МагноПрайм® DrySpot», а также сокращение Набор реагентов.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «МагноПрайм® DrySpot» предназначен для экстракции ДНК человека из сухих пятен крови и цельной крови для последующего исследования методом ПЦР.

Набор может использоваться для ручной экстракции с использованием магнитного штатива или центрифугирования, а также совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что запрограммирована последовательность действий, изложенная в инструкции по применению набора.

1.2. Материалом для проведения экстракции служат пробы биологического материала, указанного в разделе инструкции «Исследуемый материал».

1.3. Функциональное назначение: Набор реагентов предназначен для использования в качестве вспомогательного средства для диагностики *in vitro* (выделение ДНК из биологического материала для дальнейшего исследования методом ПЦР).

1.4. Показания к проведению исследования: Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике, как вспомогательное средство для выделения ДНК человека из сухих пятен крови и цельной крови и последующего исследования методом ПЦР. Может быть использован в комплексном анализе при скрининге новорожденных детей на наследственные заболевания.

1.5. Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Состав и комплектность

Набор выпускается в единой форме. Состав набора и комплектность поставки указаны в таблицах 1 и 2 соответственно. Набор предназначен для экстракции ДНК человека из сухих пятен крови и цельной крови для последующего исследования методом ПЦР.

Набор рассчитан на проведение экстракции ДНК из 96 образцов, включая контроли. Форма может быть использована как для ручной экстракции, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции НК.

Таблица 1

Состав набора

Компонент	Объем, мл	Количество	Описание
Реагент S ¹ Опасно	46,0	1 флакон	Раствор для пробоподготовки. Прозрачная жидкость ² .
Буфер L ¹ Опасно	53,0	1 флакон	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость ² .
Буфер W2 ¹ Опасно	75,0	2 флакона	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер W3 ¹ Опасно	75,0	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер E1	15,0	1 флакон	Раствор для элюции. Прозрачная жидкость.
МГС	1,1	1 пробирка	Сорбент (магнетизированная силика). Суспензия.
Реагент А	1,1	1 пробирка	Вспомогательный реагент для проведения лизиса. Прозрачная жидкость.

¹ Реагенты содержат опасные вещества. Информацию по опасным веществам и мерам предосторожности при работе с реагентами см. в разделе инструкции «Меры предосторожности и предупреждения».

² При хранении Реагента S и Буфера L возможно образование осадка в виде кристаллов.

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов	–	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде ³ на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	-
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	-

2.2. Принцип метода

Материалом для выделения ДНК могут служить сухие пятна крови, предварительно обработанные Реагентом S, или цельная кровь.

Исследуемый образец обрабатывается лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики – магнитного сорбента. В результате происходит деструкция клеточных мембран и других биополимерных комплексов и высвобождение ДНК. Растворенная ДНК связывается с частицами сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются при осаждении сорбента на магнитном штативе/стержне или с использованием центрифуги и с последующими отмывками сорбента. При добавлении буфера для элюции ДНК к магнитному сорбенту происходит переход ДНК с поверхности силики в раствор, который затем отделяется от частиц сорбента магнитной силой либо центрифугированием.

2.3. Техническое обслуживание и ремонт

Набор не подлежит техническому обслуживанию и ремонту.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль этапа экстракции ДНК осуществляется одновременно с оценкой достоверности результатов этапа амплификации.

3.1. Отрицательный и положительный контроли экстракции ДНК

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы, если они предусмотрены для проведения исследования согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации:

- отрицательный контрольный образец экстракции (ОКО) для подтверждения отсутствия ложноположительных результатов и контроля контаминации. В качестве ОКО используют реагент, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации;
- положительный контрольный образец (ПКО), если он предусмотрен для проведения ПЦР-исследования. В качестве ПКО используют реагент, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации.

Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

3.2. Контроль ингибирования

Для оценки влияния ингибиторов на результаты амплификации в ПЦР-исследовании может использоваться экзогенный⁴ и эндогенный⁵ ВКО. Экзогенный ВКО необходимо добавить в каждый исследуемый и контрольный образец согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. ВКО проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования ВКО должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

³ Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

⁴ ВКО, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации.

⁵ В качестве эндогенного ВКО используются мишени, предусмотренные набором реагентов для проведения амплификации.

3.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Рекомендуется раз в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами. Оценка наличия/отсутствия контаминации проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. Взятие и исследование смывов следует проводить согласно процедуре, описанной в МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории моющими и дезинфицирующими растворами согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09. Также для предотвращения контаминации лаборатории или в качестве мер по деконтаминации рабочих зон рекомендуется использовать раствор для дезактивации нуклеиновых кислот, например, «Олигатор» производства ООО «НекстБио», Россия.

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

4.1. Набор «МагноПрайм® DrySpot» применяется только для диагностики *in vitro*.

4.2. Набор предназначен для экстракции ДНК человека только из биологического материала, указанного в разделе «Назначение». Применение набора для выделения ДНК из другого вида биологического материала не гарантирует эффективности действия методики, лежащей в основе работы набора, и может привести к получению недостоверного результата.

4.3. Непригодными для исследования являются образцы цельной крови, взятые в пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта, и образцы цельной крови, содержащие кровяной сгусток или подвергшиеся заморозке.

4.4. Применять набор реагентов строго по назначению согласно инструкции по применению.

4.5. Не применять набор при нарушении целостности упаковки и с истекшим сроком годности.

4.6. Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала, указанные в разделе «Исследуемый материал». Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции ДНК.

4.7. Набор предназначен для профессионального применения. Набор должен использоваться только квалифицированным, обученным (в области клинической лабораторной диагностики) персоналом (врачи клинической лаборатории и медицинские лабораторные техники, обученные молекулярным биологическим методикам).

4.8. Набор может применяться совместно с ПЦР-наборами для диагностики наследственных заболеваний у новорожденных детей, зарегистрированными в установленном порядке на территории Российской Федерации.

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» и 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».

5.2. Исследования по детекции нуклеиновых кислот должны проводиться в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

5.3. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор строго по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов анализа.

- Лабораторный процесс должен быть односторонним. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку⁶, биологический материал⁷, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром⁸. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Набор предназначен для однократного применения для проведения экстракции ДНК из указанного количества образцов (см. раздел «Состав и комплектность»).

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21).

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не смешивать реагенты из разных серий набора.

- Не использовать набор по истечении срока годности.

⁶ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

⁷ Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.

⁸ Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции используются одноразовые наконечники без фильтра.

- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.
- При контакте немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь, рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.
- Входящие в состав набора реагенты Реагент S, Буфер L, Буфер W2 и Буфер W3 содержат опасные вещества, указанные в таблице 3. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данными реагентами, приведены в таблице 3. Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности представлена в таблице 4.

Таблица 3

**Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с
Реагентом S, Буфером L, Буфером W2 и Буфером W3**

Реагент	Опасные вещества	Заявления об опасности	Меры предосторожности
Реагент S	гуанидин тиоцианат, тритон X-100, 1-тиоглицерол	H302, H311, H312, H315, H319, H332, H411, H412, EUH032	P261, P264, P270, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+H351+P338, P312, P332+P313, P337+P313, P362+P364, P501
Буфер L	изопропанол, гуанидин гидрохлорид, гуанидин тиоцианат, тритон X-100, 1-тиоглицерол	H225, H302, H311, H312, H315, H319, H332, H336, H411, H412, EUH032	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P332+P313, P337+P313, P362+P364, P370+P378, P403+P235, P501
Буфер W2	изопропанол	H225, H319, H336	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501
Буфер W3	изопропанол	H225, H319, H336	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501

Таблица 4

Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. H302: Вредно при проглатывании. H311: Токсично при контакте с кожей. H312: Вредно при контакте с кожей. H315: Вызывает раздражение кожи. H319: Вызывает серьезное раздражение глаз. H332: Вредно при вдыхании.	H336: Может вызывать вялость или сонливость. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Меры предосторожности	
P210: Хранить вдали от источников тепла, горячих поверхностей, искр, открытого пламени и других источников воспламенения. Не курить. P233: Хранить в плотно закрытой таре. P241: Использовать взрывобезопасное электрическое оборудование. P242: Используйте только неискрящие инструменты. P261: Избегать вдыхания паров. P264: Вымойте руки после работы тщательно. P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта. P271: Используйте только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Пользоваться защитными перчатками и средствами защиты глаз. P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой или принять душ.	P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз, снять их и продолжить промывание водой. P312: Обратиться к врачу при плохом самочувствии. P332+P313: При раздражении кожи: обратиться к врачу. P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией. P362+P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием. P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения. P403+P235: Хранить в прохладном, хорошо вентилируемом месте. P501: Утилизировать содержимое в соответствии с национальными правилами 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».

- Остальные реагенты, входящие в состав набора, содержат натрия азид в концентрации не более 0,1 % и, соответственно, не классифицируются как опасные и не требуют соблюдения специальных мер предосторожности, кроме указанных в данном разделе.

- Листы безопасности реагентов Реагент S, Буфер L, Буфер W2 и Буфер W3 доступны по запросу.

- Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека. При аварийных ситуациях возможно причинение вреда при попадании на кожу и слизистую оболочку глаз, при вдыхании и при проглатывании.

5.4. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.

- Мутагенное действие отсутствует.

- Репродуктивная токсичность отсутствует.

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие исследуемого материала

6.1.1. Карты для сбора образцов биоматериала «ДНК-карта» (FTA-карта), рекомендованные производителем для сбора, хранения и транспортировки образцов капиллярной и венозной крови человека для последующего исследования методом ПЦР.

6.1.2. Скарификатор (ланцет) стерильный, одноразовый.

6.1.3. Вакуумные пробирки для взятия крови с антикоагулянтом (раствором ЭДТА или цитратом натрия).

6.1.4. Двухсторонняя игла для взятия крови в вакуумную пробирку, одноразовая, стерильная.

6.2. Предварительная подготовка исследуемого материала

6.2.1. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.2.2. Автоматический перфоратор или ручной дырокол, позволяющие выбивать бумажные диски диаметром 3,0; 3,2 или 6,0 мм.

6.2.3. Вортекс.

6.2.4. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10 000 g.

6.2.5. Одноразовые полипропиленовые заворачивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл, свободные от ДНКаз.

6.2.6. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С.

6.2.7. Одноразовые наконечники, свободные от ДНКаз, для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл.

6.2.8. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.

6.2.9. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.2.10. Холодильник от 2 °С до 8 °С.

6.2.11. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.2.12. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

6.3. Автоматическая методика экстракции ДНК

ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые полипропиленовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКа.

6.3.1. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.3.2. Вортекс.

6.3.3. Автоматическая станция для экстракции НК, зарегистрированная в РФ и удовлетворяющая следующим требованиям:

- возможность реализации последовательности этапов экстракции, описанной в разделе «Экстракция ДНК из исследуемого материала» (п. 8.2.2.);
- наличие системы дозирования жидкостей;
- наличие магнитного штатива или магнитных стержней для сбора магнетизированной силики;
- наличие термостата или термошейкера с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С;
- наличие системы перемешивания жидкостей шейкерованием или пипетированием.

В ходе проведения испытаний валидацию прошли следующие автоматические станции для экстракции нуклеиновых кислот: Microlab STARlet (ПУ № РЗН 2018/6981), KingFisher Flex (ПУ № ФСЗ 2009/05562), Auto-Pure 96 (ПУ № РЗН 2022/16430), Nexor 96 (ПУ № РЗН 2022/18023).

6.3.4. Комплект расходных материалов для автоматической станции для экстракции НК согласно инструкции Производителя.

6.3.5. Холодильник от 2 °С до 8 °С.

6.3.6. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.3.7. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

6.4. Ручная методика экстракции ДНК

6.4.1. Одноразовые полипропиленовые закручивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл, свободные от ДНКа.

6.4.2. Одноразовые наконечники, свободные от ДНКа, для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл.

6.4.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 200 мкл.

6.4.4. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.

6.4.5. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл - при проведении экстракции с использованием магнитного штатива (см. раздел «Экстракция ДНК из исследуемого материала», п. 8.3.2.).

6.4.6. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10 000 g - при проведении экстракции с использованием центрифугирования (см. раздел «Экстракция ДНК из исследуемого материала», п. 8.4.2.).

6.4.7. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.4.8. Вортекс.

6.4.9. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С.

6.4.10. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надсадочной жидкости.

6.4.11. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.4.12. Холодильник от 2 °С до 8 °С.

6.4.13. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.4.14. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Материалом для исследования служат:

- сухие пятна крови;
- цельная кровь.

Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с нижеперечисленными требованиями, несоблюдение которых может привести к получению некорректных результатов исследования.

7.1. Сухие пятна крови

Сухие пятна крови получают путем нанесения на ДНК-карту (FTA-карту) нативной капиллярной крови, прикладывая ДНК-карту к скарифицированному участку кожи, либо путем нанесения на ДНК-карту венозной крови, предварительно отобранной в вакуумные пробирки для взятия крови с антикоагулянтом (раствором ЭДТА или цитратом натрия).

Примечание: взятие образцов крови у пациентов, последующее изготовление сухих пятен крови, их транспортировка и хранение проводится в соответствии с Инструкциями производителей к ДНК-картам, рекомендованным для этого.

7.2. Цельная кровь

Взятие крови проводится натощак или через 3 часа после приема пищи в пробирку с антикоагулянтом (раствором ЭДТА или цитрата натрия).

ВНИМАНИЕ! Недопустимо использовать гепарин в качестве антикоагулянта.

Для тщательного перемешивания крови с антикоагулянтом необходимо несколько раз перевернуть пробирку.

Допускается хранение образцов цельной крови до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 18 °С до 25 °С – в течение 2 часов с момента получения материала;
- при температуре от 2 °С до 8 °С – в течение 3 суток с момента получения материала.

ВНИМАНИЕ! Недопустимо замораживание образцов цельной крови.

ВНИМАНИЕ! Предварительная подготовка цельной крови (обработка Реагентом S) не требуется.

8. ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Экстракция ДНК должна проводиться при нормальных показателях микроклимата клинико-диагностической лаборатории⁹:

- температура окружающего воздуха от 20 °С до 28 °С;
- относительная влажность от 40% до 75%.

8.1. Предварительная подготовка исследуемого материала (только для сухих пятен крови)

ВНИМАНИЕ! Перед экстракцией необходимо провести предобработку сухих пятен крови.

8.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл для каждого тест-бланка (исследуемого образца). Промаркировать.

8.1.2. Выбить с помощью автоматического перфоратора или ручного дырокола бумажный диск из сухого пятна крови. Для получения одного препарата ДНК необходимо из тест-бланка выбить 3 диска диаметром 3,0 мм (допускается использование трех дисков диаметром 3,2 мм) или 1 диск диаметром 6,0 мм.

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

Примечание: перед выбиванием дисков для каждого нового образца рекомендуется сделать 2-3 высечки на чистом участке фильтровальной бумаги, что позволит снизить риск контаминации нового образца фрагментами от предыдущих высечек. По завершении процедуры выбивания дисков проведите обработку лезвия перфоратора согласно инструкции к нему.

8.1.3. Поместить выбитые диски в промаркированные пробирки для исследуемых образцов.

Примечание: Реагент S (если хранился при температуре от 2 °С до 8 °С) прогреть при температуре 75 °С до полного растворения кристаллов. Перемешать взбалтыванием.

8.1.4. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых образцов по **400 мкл Реагента S**. Тщательно перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.1.5. Поместить пробирки в термостат с температурой **75 °С на 15 минут**, перемешивая каждые 2 минуты.

8.1.6. Центрифугировать в течение **3 минут** при **10 000 g**.

8.1.7. Отобрать полностью надосадочную жидкость, не упираясь наконечником в диски. Перенести в чистые пробирки.

Примечание: процедуру пробоподготовки необходимо проводить непосредственно перед экстракцией ДНК. Предобработанный материал хранению не подлежит.

8.1.8. Далее провести экстракцию в соответствии с п. 8.2, 8.3 или 8.4.

8.2. Автоматическая методика экстракции

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную в п. 8.2.2.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО, отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы¹⁰, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

⁹ Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

¹⁰ Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

8.2.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.2.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

8.2.1.2. Перемешать взбалтыванием Буфер L, Буфер W2, Буфер W3 и Буфер E1.

8.2.1.3. Перемешать Реагент А, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.

8.2.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.2.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента А, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента А, 10 мкл МГС и 10 мкл ВКО¹¹**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание: допускается внесение всего содержимого пробирок с **Реагентом А, МГС** и объема **ВКО¹¹**, необходимого для проведения исследования 96 образцов, в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.2.2. Процедура экстракции ДНК

8.2.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

а) по **30 мкл** подготовленной смеси **Реагента А, МГС, ВКО** и по **500 мкл Буфера L**

или

б) по **530 мкл** подготовленной смеси **Реагента А, МГС, ВКО** и **Буфера L**.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.2.2.2. Внести в пробирки исследуемые¹² и контрольные образцы, используя для каждого образца отдельный наконечник. Образцы вносят в следующих объемах:

- надосадочная жидкость после предобработки сухих пятен крови – **300 мкл**;
- цельная кровь – **100 мкл**;
- контрольные образцы – **100 мкл**.

8.2.2.3. Перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.4. Прогреть пробирки при температуре **60 °С** в течение **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.5. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

¹¹ Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

¹² Для образцов сухих пятен крови необходимо произвести предобработку согласно разделу «Предварительная подготовка сухих пятен крови».

8.2.2.6. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

8.2.2.7. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**, перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.8. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**

8.2.2.9. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.2.2.6.

8.2.2.10. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**, перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.11. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**

8.2.2.12. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.2.2.6.

8.2.2.13. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W3** и удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера W3 содержимое пробирок не перемешивать.

8.2.2.14. Добавить в пробирки по **100 мкл Буфера E1**, перемешать.

8.2.2.15. Прогреть пробирки при температуре **80 °C** в течение **5 мин** с включенным перемешиванием.

8.2.2.16. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**

8.2.2.17. Вынуть магнитный стержень с силикой из пробирок или при использовании магнитного штатива перенести надосадочную жидкость в новую пробирку или плашку.

8.2.2.18. Элюат содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

8.3. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО, отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы¹³, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.3.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.3.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

8.3.1.2. Перемешать взбалтыванием Буфер L, Буфер W2, Буфер W3 и Буфер E1.

8.3.1.3. Перемешать Реагент А, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.

8.3.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

¹³ Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

8.3.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента А, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента А, 10 мкл МГС и 10 мкл ВКО¹⁴**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание: допускается внесение всего содержимого пробирок с **Реагентом А, МГС** и объема **ВКО¹⁴**, необходимого для проведения исследования 96 образцов, в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.3.2. Процедура экстракции ДНК

8.3.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

а) по **30 мкл** подготовленной смеси **Реагента А, МГС, ВКО** и по **500 мкл Буфера L**

или

б) по **530 мкл** подготовленной смеси **Реагента А, МГС, ВКО** и **Буфера L**.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.3.2.2. Внести в пробирки исследуемые¹⁵ и контрольные образцы, используя для каждого образца отдельный наконечник. Образцы вносят в следующих объемах:

- надосадочная жидкость после предобработки сухих пятен крови – **300 мкл**;
- цельная кровь – **100 мкл**;
- контрольные образцы – **100 мкл**.

8.3.2.3. Перемешать содержимое пробирок.

8.3.2.4. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.3.2.5. Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.3.2.6. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на **200 мкл** для каждой пробы.

8.3.2.7. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**. Плотнo закрыть крышки.

8.3.2.8. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.3.2.9. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.

8.3.2.10. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.6.

8.3.2.11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**. Плотнo закрыть крышки.

8.3.2.12. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

¹⁴ Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

¹⁵ Для образцов сухих пятен крови необходимо произвести предобработку согласно разделу «Предварительная подготовка сухих пятен крови».

8.3.2.13. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин.**

8.3.2.14. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.6.

8.3.2.15. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в них по **700 мкл Буфера W3**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера W3 содержимое пробирок не перемешивать.

8.3.2.16. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.6

8.3.2.17. Добавить в пробирки по **100 мкл Буфера E1**. Плотно закрыть крышки.

8.3.2.18. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.19. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °C** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.3.2.20. Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.3.2.21. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

8.4. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО, отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы¹⁶, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.4.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции ДНК

8.4.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

8.4.1.2. Перемешать взбалтыванием Буфер L, Буфер W2, Буфер W3 и Буфер E1.

8.4.1.3. Перемешать Реагент А, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.

8.4.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.4.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента А, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента А, 10 мкл МГС и 10 мкл ВКО¹⁷**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание: допускается внесение всего содержимого пробирок с **Реагентом А, МГС** и объема **ВКО¹⁷**, необходимого для проведения исследования 96 образцов, в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 °C до 8 °C.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

¹⁶ Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

¹⁷ Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

8.4.2. Процедура экстракции ДНК

8.4.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

а) по **30 мкл** подготовленной смеси Реагента А, МГС, ВКО и по **500 мкл Буфера L**

или

б) по **530 мкл** подготовленной смеси Реагента А, МГС, ВКО и Буфера L.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.4.2.2. Внести в пробирки исследуемые¹⁸ и контрольные образцы, используя для каждого образца отдельный наконечник. Образцы вносят в следующих объемах:

- надосадочная жидкость после предобработки сухих пятен крови – **300 мкл**;
- цельная кровь – **100 мкл**;
- контрольные образцы – **100 мкл**.

8.4.2.3. Перемешать содержимое пробирок.

8.4.2.4. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °C** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортке.

8.4.2.5. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.4.2.6. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

8.4.2.7. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**. Перемешать содержимое пробирок на вортке.

8.4.2.8. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.4.2.9. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.4.2.6.

8.4.2.10. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**. Перемешать содержимое пробирок на вортке.

8.4.2.11. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.4.2.12. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.4.2.6.

8.4.2.13. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W3**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера W3 содержимое пробирок не перемешивать.

8.4.2.14. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.4.2.15. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.4.2.6

8.4.2.16. Добавить в пробирки по **100 мкл Буфера E1**, перемешать на вортке.

8.4.2.17. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °C** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.4.2.18. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.4.2.19. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение ДНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

¹⁸ Для образцов сухих пятен крови необходимо произвести предобработку согласно разделу «Предварительная подготовка сухих пятен крови».

8.5. Хранение очищенной ДНК

Очищенная ДНК может храниться при температуре от 2 °С до 8 °С в течение недели, при температуре от минус 24 °С до минус 16 °С в течение 6 месяцев и при температуре не выше минус 68 °С в течение года. Для этого необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

9.1. Чистота экстрагированной ДНК

Чистота выделения ДНК составляет не менее 1,6 при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

9.2. Влияние интерферирующих веществ и ДНК человека

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом материале, на эффективность экстракции ДНК при использовании набора «МагноПрайм® DrySpot» отсутствует. Это было показано при добавлении к образцам биологического материала интерферирующих веществ, представленных в таблице 5, в максимально возможной концентрации.

Таблица 5

Интерферирующие вещества, использованные при тестировании набора «МагноПрайм® DrySpot»

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
Сухие пятна крови	Гемоглобин	200 мг/мл
	Билирубин	0,2 мг/мл
	Триглицериды	5 мг/мл
	ЭДТА	992,8 мг/мл
	Компонент разметки ДНК-карты	-
	ДНК человека	5,0х10 ⁶ кл/мл
Цельная кровь	Гемоглобин	200 мг/мл
	Билирубин	0,2 мг/мл
	Триглицериды	5 мг/мл
	ЭДТА	992,8 мг/мл
	ДНК человека	5,0х10 ⁶ кл/мл

10. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

10.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 25 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с холодоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

10.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в течение всего срока годности набора. Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Смесь, приготовленную из Буфера L, Реагента А, ВКО и МГС, хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более 2 месяцев.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора реагентов «МагноПрайм® DrySpot» направлять в адрес производителя ООО «НекстБио»: 111394 г. Москва, ул. Полимерная, 8 стр. 2, тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в Российской Федерации – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru.

Лист регистрации изменений

[illegible]

Пронумеровано, скреплено и прочито
22 лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«НесетБиз»

М.Е. Сенина





УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»



М. Е. Сенина

ИЗВЕЩЕНИЕ № 09286667.065.1/2-2024

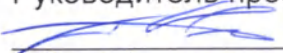
об изменении инструкции по применению набора реагентов для экстракции ДНК человека

из сухих пятен крови и цельной крови

«МагноПрайм® DrySpot» по ТУ 21.20.23-219-09286667-2023

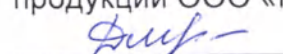
СОГЛАСОВАНО

Руководитель проектов ООО «НекстБио»

 М. Н. Гарас

09.01.2024

Руководитель отдела разработки новой
продукции ООО «НекстБио»

 М. Ю. Дмитрюкова

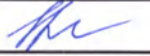
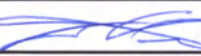
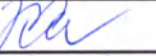
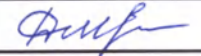
09.01.2024

Старший специалист по документации
отдела разработки производственной
документации ООО «НекстБио»



П. Н. Мудракова

09.01.2024

ООО «НекстБио»	Извещение		Обозначение		Причина		Код	Лист	Листов
	09286667.065.1/2-2024		Инструкция по применению набора реагентов «МагноПрайм® DrySpot»		Внедрение и изменение стандартов и ТУ		4	2	3
ОРПД	Дата выпуска	09.01.24	Срок изм.	11.01.24	Обозначение ПИ (ДПИ, ПР)	—	Срок действия ПИ	—	
Указание о заделе	Задела нет.						Указание о внедрении		
							—		
Изм.	Содержание изменения						Применяемость		
1	Версия документа. Изменена версия документа в нижнем колонтитуле с 22.10.23-0 на 09.01.24-1. Изменение ввести заменой стр. 2 – 20.						На применяемости не отражается.		
Разослать									
РОСЗДРАВНАДЗОР (Управление организацией государственного контроля и регистрации МИ), Испытательный центр ООО «Электронтест», ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского									
Приложение									
	Составил	Согласовал	Согласовал	Согласовал	Н. контроль	Утвердил			
Долж-ность	Старший специалист по документации ОРПД	Руководитель проектов	Главный технолог	Руководитель ОРНП	Руководитель проектов	Генеральный директор			
Ф.И.О.	Мудракова П.Н.	Гарас М.Н.	Шехова Т.В.	Дмитрюкова М.Ю.	Гарас М.Н.	Сенина М.Е.			
Подпись									
Дата	09.01.2024	09.01.2024	09.01.2024	09.01.2024	09.01.2024	09.01.2024			
Изменения внес		Старший специалист по документации ОРПД		Мудракова П.Н.			09.01.2024		

Извещение	09286667.065.1/2-2024	Обозначение ПИ (ДПИ, ПР)	–	Лист
Изм.	Содержание изменения			3
1				

Раздел 12. «Символы, используемые в документации производителя», стр. 20.

Изменены названия символов согласно ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023:

...	...
	Содержимого достаточно для проведения n -количества <n> тестов
	Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению

Изменение ввести заменой стр. 20.

Добавлен Лист регистрации изменений.

Изменение ввести добавлением новой страницы.

Пронумеровано, скреплено и прошито
лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью

«Искерьяно»

М.Е. Сенина

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»

М. Е. Сенина



НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ ДНК ЧЕЛОВЕКА
ИЗ СУХИХ ПЯТЕН КРОВИ И ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ
«МАГНОПРАЙМ® DRYSPOT»
ПО ТУ 21.20.23-219-09286667-2023

Краткое руководство по применению версии 22.10.23-1

Лист утверждения



Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru (для ее получения необходим доступ в интернет). Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

Краткое руководство

по применению набора реагентов для экстракции
ДНК человека из сухих пятен крови и цельной крови
«МагноПрайм® DrySpot»
по ТУ 21.20.23-219-09286667-2023

МагноПрайм® DrySpot

REF 113-Z



ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

IVD

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

- ✓ сухие пятна крови;
- ✓ цельная кровь.

ХРАНЕНИЕ ОЧИЩЕННОЙ ДНК

Температура	Длительность хранения
2 °C ... 8 °C	7 дней
- 24 °C ... - 16 °C	6 месяцев
- 68 °C	12 месяцев

СОСТАВ

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество	Заявления об опасности ¹
Реагент S 	Прозрачная жидкость ²	46,0	1 флакон	H302: Вредно при проглатывании, H311: Токсично при контакте с кожей, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H332: Вредно при вдыхании, H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями, EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Буфер L 	Прозрачная жидкость ²	53,0	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H302: Вредно при проглатывании, H311: Токсично при контакте с кожей, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H332: Вредно при вдыхании, H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями, EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Буфер W2 	Прозрачная жидкость	75,0	2 флакона	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H336: Может вызвать вялость или сонливость.
Буфер W3 	Прозрачная жидкость	75,0	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H336: Может вызвать вялость или сонливость.
Буфер E1	Прозрачная жидкость	15,0	1 флакон	—
МГС	Суспензия	1,1	1 пробирка	—
ОКО	Прозрачная жидкость	1,1	1 пробирка	—

Набор реагентов рассчитан на экстракцию ДНК из 96 образцов, включая контроли.

ХРАНЕНИЕ

Условия хранения набора
2 °C ... 25 °C

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	—
Инструкция по применению набора	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru
Краткое руководство	в бумажном виде
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru

¹ ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует соблюдать меры предосторожности, описанные в инструкции по применению набора.

² При хранении Реагента S и Буфера L возможно образование осадка в виде кристаллов.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА (ТОЛЬКО ДЛЯ СУХИХ ПЯТЕН КРОВИ)

- ВНИМАНИЕ!** Перед экстракцией необходимо провести предобработку сухих пятен крови.
1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл для каждого тест-бланка (исследуемого образца). Промаркировать.
 2. Выбить с помощью автоматического перфоратора или ручного дырокола бумажный диск из сухого пятна крови. Для получения одного препарата ДНК необходимо из тест-бланка выбить 3 диска диаметром 3,0 мм (допускается использование трех дисков диаметром 3,2 мм) или 1 диск диаметром 6,0 мм.
- ВНИМАНИЕ!** Выбитые диски должны быть полностью пропитаны кровью. Рекомендуется выбивать диски из центральной области пятна, не захватывая область ограничивающей краски.
- Примечание:** перед выбиванием дисков для каждого нового образца рекомендуется сделать 2-3 высечки на чистом участке фильтровальной бумаги, что позволит снизить риск контаминации нового образца фрагментами от предыдущих высечек. По завершении процедуры выбивания дисков проведите обработку лезвия перфоратора согласно инструкции к нему.
3. Поместить выбитые диски в промаркированные пробирки для исследуемых образцов.
- Примечание:** Реагент S (если хранился при температуре от 2 °C до 8 °C) прогреть при температуре 75 °C до полного растворения кристаллов. Перемешать взбалтыванием.
4. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых образцов по 400 мкл Реагента S. Тщательно перемешать содержимое пробирок на вортексе.
 5. Поместить пробирки в термостат с температурой 75 °C на 15 минут, перемешивая каждые 2 минуты.
 6. Центрифугировать в течение 3 минут при 10 000 g.
 7. Отобрать полностью надосадочную жидкость, не упираясь наконечником в диски. Перенести в чистые пробирки.
- Примечание:** процедуру пробоподготовки необходимо проводить непосредственно перед экстракцией ДНК. Предобработанный материал хранению не подлежит.
8. Далее провести экстракцию в соответствии с п. 8.2, 8.3 или 8.4.

АВТОМАТИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ

- ВНИМАНИЕ!** При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную ниже.
- ВНИМАНИЕ!** Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО, отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы³, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.
1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
 2. Перемешать взбалтыванием Буфер L, Буфер W2, Буфер W3 и Буфер E1.
 3. Перемешать Реагент А, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.
 4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
 5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента А, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: 10 мкл Реагента А, 10 мкл МГС и 10 мкл ВКО⁴, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.
- Примечание:** допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом А, МГС и объема ВКО⁴, необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер L. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 °C до 8 °C.
- ВНИМАНИЕ!** Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.
6. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых⁵ и контрольных образцов, следующие реагенты/образцы:

Добавляемый реагент / образец		
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента А, МГС и ВКО		
Смесь Реагента А, МГС и ВКО	30 мкл	в каждую пробирку
Буфер L	500 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 – 300 мкл ⁶	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
ПКО	100 мкл	в пробирку для положительного контроля
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента А, МГС, ВКО и Буфера L		
Смесь Реагента А, МГС, ВКО и Буфера L	530 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 – 300 мкл ⁶	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
ПКО	100 мкл	в пробирку для положительного контроля

- ВНИМАНИЕ!** Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.
7. Перемешать содержимое пробирок.
 8. Прогреть пробирки при температуре 60 °C в течение 10 мин. Перемешать содержимое пробирок.
 9. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на 2 мин.

³ Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

⁴ Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

⁵ Для образцов сухих пятен крови необходимо произвести предобработку согласно разделу «Предварительная подготовка исследуемого материала (только для сухих пятен крови)».

⁶ 100 мкл цельной крови или 300 мкл надосадочной жидкости после предобработки сухих пятен крови.

10. Удалить надосадоочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.
11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**, перемешать содержимое пробирок.
12. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**
13. Отобрать надосадоочную жидкость аналогично п. 10.
14. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**, перемешать содержимое пробирок.
15. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**
16. Отобрать надосадоочную жидкость аналогично п. 10.
17. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W3** и удалить надосадоочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера W3 содержимое пробирок не перемешивать.

18. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1**, перемешать.
19. Прогреть пробирки при температуре **80 °С** в течение **5 мин** с включенным перемешиванием.
20. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**
21. Вынуть магнитный стержень с силикой из пробирок или при использовании магнитного штатива перенести надосадоочную жидкость в новую пробирку или плашку.
22. Элюат содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

РУЧНАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАГНИТНОГО ШТАТИВА

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО, отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы⁷, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
2. Перемешать взбалтыванием Буфер L, Буфер W2, Буфер W3 и Буфер E1.
3. Перемешать Реагент А, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортке.
4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортке. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента А, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента А, 10 мкл МГС и 10 мкл ВКО⁸**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортке.

Примечание: допускается внесение всего содержимого пробирок с **Реагентом А, МГС** и объема **ВКО⁸**, необходимого для проведения исследования 96 образцов, в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

6. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых⁹ и контрольных образцов, следующие реагенты/образцы:

Добавляемый реагент / образец		
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента А, МГС и ВКО		
Смесь Реагента А, МГС и ВКО	30 мкл	в каждую пробирку
Буфер L	500 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 – 300 мкл ¹⁰	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
ПКО	100 мкл	в пробирку для положительного контроля
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента А, МГС, ВКО и Буфера L		
Смесь Реагента А, МГС, ВКО и Буфера L	530 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 – 300 мкл ¹⁰	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
ПКО	100 мкл	в пробирку для положительного контроля

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

7. Перемешать содержимое пробирок.
8. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин.** Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортке.
9. Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин.**
10. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадоочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.
11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**. Плотнo закрыть крышки.
12. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортке.
13. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин.**
14. Отобрать надосадоочную жидкость аналогично п. 10.
15. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**. Плотнo закрыть крышки.
16. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортке.
17. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин.**
18. Отобрать надосадоочную жидкость аналогично п. 10.
19. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в них по **700 мкл Буфера W3**.

⁷ Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

⁸ Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

⁹ Для образцов сухих пятен крови необходимо произвести предобработку согласно разделу «Предварительная подготовка исследуемого материала (только для сухих пятен крови)».

¹⁰ 100 мкл цельной крови или 300 мкл надосадоочной жидкости после предобработки сухих пятен крови.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера W3 содержимое пробирок не перемешивать.

- 20. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
- 21. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1**. Плотно закрыть крышки.
- 22. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
- 23. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °C** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.
- 24. Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.
- 25. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

РУЧНАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.
ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО, отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы¹¹, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

- 1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
- 2. Перемешать взбалтыванием Буфер L, Буфер W2, Буфер W3 и Буфер E1.
- 3. Перемешать Реагент А, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.
- 4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
- 5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента А, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента А, 10 мкл МГС и 10 мкл ВКО¹²**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание: допускается внесение всего содержимого пробирок с **Реагентом А, МГС** и объема **ВКО¹²**, необходимого для проведения исследования 96 образцов, в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 °C до 8 °C.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

- 6. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых¹³ и контрольных образцов, следующие реагенты/образцы:

Добавляемый реагент / образец		
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента А, МГС и ВКО		
Смесь Реагента А, МГС и ВКО	30 мкл	в каждую пробирку
Буфер L	500 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 – 300 мкл ¹⁴	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
ПКО	100 мкл	в пробирку для положительного контроля
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента А, МГС, ВКО и Буфера L		
Смесь Реагента А, МГС, ВКО и Буфера L	530 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 – 300 мкл ¹⁴	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
ПКО	100 мкл	в пробирку для положительного контроля

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

- 7. Перемешать содержимое пробирок.
- 8. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °C** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
- 9. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
- 10. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.
- 11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
- 12. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
- 13. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
- 14. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
- 15. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
- 16. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
- 17. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W3**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера W3 содержимое пробирок не перемешивать.

- 18. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
- 19. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
- 20. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1**, перемешать на вортексе.
- 21. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °C** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.
- 22. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
- 23. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение ДНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

¹¹ Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

¹² Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

¹³ Для образцов сухих пятен крови необходимо произвести предобработку согласно разделу «Предварительная подготовка исследуемого материала (только для сухих пятен крови)».

¹⁴ 100 мкл цельной крови или 300 мкл надосадочной жидкости после предобработки сухих пятен крови.

Пронумеровано, скреплено и прошито
лист (а/ов)



Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«НекстБио»

М.Е. Сенина

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

ООО «НекстБио»

М. Е. Сенина



НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ ДНК ЧЕЛОВЕКА
ИЗ СУХИХ ПЯТЕН КРОВИ И ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ
«МАГНОПРАЙМ® DRYSPOT»
ПО ТУ 21.20.23-219-09286667-2023

Шаблон паспорта качества

Лист утверждения

ПАСПОРТ КАЧЕСТВА
№ номер лота/113-Z

МагноПрайм® DrySpot

Набор реагентов для экстракции ДНК человека из сухих пятен крови и цельной крови
«МагноПрайм® DrySpot» по ТУ 21.20.23-219-09286667-2023

LOT

x



гггг-мм-дд



гггг-мм-дд

Контроль качества проведен по ТУ 21.20.23-219-09286667-2023.

1. УПАКОВКА И МАРКИРОВКА НАБОРА

Упаковка и маркировка набора указанной серии соответствуют требованиям ТУ 21.20.23-219-09286667-2023.

2. КОМПЛЕКТНОСТЬ ПОСТАВКИ

Компонент	Характеристика	Норма	Результаты контроля
Набор реагентов «МагноПрайм® DrySpot»	— =	в наличии	соответствует
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	в наличии	соответствует
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	в наличии	соответствует
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	в наличии	соответствует

3. СОСТАВ НАБОРА И ВНЕШНИЙ ВИД КОМПОНЕНТОВ

Компонент	Норма	Результаты контроля
Реагент S	1 флакон. Прозрачная жидкость. Допускается образование осадка в виде кристаллов.	соответствует
Буфер L	1 флакон. Прозрачная жидкость. Допускается образование осадка в виде кристаллов.	соответствует
Буфер W2	2 флакона. Прозрачная жидкость.	соответствует
Буфер W3	1 флакон. Прозрачная жидкость.	соответствует
Буфер E1	1 флакон. Прозрачная жидкость.	соответствует
МГС	1 пробирка. Суспензия.	соответствует
Реагент A	1 пробирка. Прозрачная жидкость.	соответствует

4. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Показатель	Норма	Результаты контроля
Эффективность экстракции*		
Выявление ДНК человека при исследовании модельных образцов, изготовленных с использованием стандартного образца предприятия «СОП 209-16 ДНК человека» и карты для сбора образцов биоматериала «ДНК-карта».	ДНК человека обнаружена.	соответствует

* При тестировании набора совместно с набором реагентов для проведения амплификации «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы» (РУ № РЗН 2015/3164).

Результаты тестирования исследуемых образцов и контролей исследования соответствуют критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации «АмплиПрайм® ФЛОРОСКРИН®-Микоплазмы».

5. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Условия транспортирования	Условия хранения
Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 25 °С. Не допускается замораживание реагентов.	Набор хранить при температуре от 2 °С до 25 °С. Не допускается замораживание реагентов.

Дата выдачи паспорта ХХ.ХХ.ХХ

Должность

печать подразделения

подпись (расшифровка)

Пронумеровано, скреплено и прошито

2 лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«Некстбио»

М.Е. Сенина

