



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для выделения ДНК из крови сельскохозяйственных и домашних животных

ПРОБА-ЦИТО ВЕТ

Декларация о соответствии
№ РОСС RU Д-RU.PA01.B.52578/24 от 27 декабря 2024 года

ВНИМАНИЕ! Изучите инструкцию перед началом работы

СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	4
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ	5
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	6
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	7
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	9
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	10
7	ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК.....	11
8	ХРАНЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА ДНК.....	13
9	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	13
10	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ	14
11	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ	14
12	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ	14
13	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	14
14	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ	15

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
К-	- отрицательный контрольный образец
КРС	- крупный рогатый скот
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНКазы	- рибонуклеазы

1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

1.1 Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выделения ДНК из крови сельскохозяйственных и домашних животных (ПРОБА-ЦИТО ВЕТ), далее по тексту – набор реагентов.

1.2 Назначение: набор реагентов предназначен для выделения тотальной ДНК из крови сельскохозяйственных и домашних животных для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

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

1.4 Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, осуществляющий взятие и предобработку материала; специалисты, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в ветеринарной лаборатории в установленном порядке: врач диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (лабораторный техник).

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

2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1 Состав набора реагентов

Набор выпускается в фасовке для ручного дозирования (маркируется – фасовка N).

REF Р-031-N/2, фасовка N			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество флаконов / пробирок	Номинальный объём компонента
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
Отрицательный контрольный образец	Прозрачная бесцветная жидкость	1 флакон	12,5 мл

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

Комплектность:

- Набор реагентов – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 экз.
- Паспорт – 1 экз.

2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов рассчитан на выделение ДНК из 50 анализируемых образцов (не более 25 постановок), включая отрицательные контрольные образцы.

2.3 Принцип метода

Принцип метода основан на щелочном лизисе клеток, происходящем в ходе термического инкубирования.

Эффективность такого выделения ДНК из клинического материала приближается к максимально возможному в связи с тем, что используется высокотемпературная обработка образцов в лизирующем растворе, а потери минимизированы.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

3.2 Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых/недостоверных) результатов. Признаком полного ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта.

К ингибиторам ПЦР отнесены следующие вещества: гемоглобин, триглицериды, билирубин, холестерин, оставшиеся в образце ДНК в результате неполного их удаления в процессе выделения ДНК из образца биоматериала.

При выделении нуклеиновых кислот из образцов биоматериала максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на исследование методом полимеразной цепной реакции составили: холестерина – до 13 ммоль/л образца биоматериала, триглицеридов – до 37 ммоль/л, гемоглобина – до 0,35 мг/мл, билирубина – до 684 мкмоль.

Примеси, содержащиеся в образце биоматериала, удаляются в процессе выделения ДНК. Для снижения количества ингибиторов ПЦР необходимо соблюдать правила взятия биологического материала.

3.3 Наборы реагентов, совместно с которыми может быть использован набор реагентов для выделения ДНК

Набор реагентов ПРОБА-ЦИТО ВЕТ может быть использован совместно с наборами реагентов, предназначенными для анализа ДНК методом ПЦР.

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям национального законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия. Исследуемые образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором 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 нормативными документами.

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

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

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

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

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных нормативными документами.

При использовании набора реагентов в ветеринарной клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями нормативных документов.

Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент комплекта реагентов	Наличие/отсутствие опасного компонента	Указание на риски	Меры безопасности
Лизирующий раствор	Щелочь	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	-	-
Отрицательный контрольный образец	Нет опасных веществ	-	-

Расшифровка обозначений: H302: Вредно при проглатывании; H315: Вызывает раздражение кожи; H319: При попадании в глаза вызывает выраженное раздражение; 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 беспокойности: обратиться к врачу; P501: удалить содержимое/упаковку в соответствии с требованиями нормативных документов

При работе с набором реагентов следует использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте промыть пораженный участок большим количеством воды и обратиться за медицинской помощью.

Не использовать набор реагентов:

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

Примечание – Набор реагентов **не содержит** материалов биологического происхождения, веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование, реагенты и расходные материалы:

- бокс биологической безопасности II класса биологической защиты;
- центрифуга для пробирок объемом 1,5 мл, с RCF(g) не ниже 12000;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру 90 °С;
- электрический лабораторный аспиратор с колбой-ловушкой для удаления надосадочных жидкостей;
- одноразовые наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз, для электрического лабораторного аспиратора;
- холодильник с морозильной камерой;
- микроцентрифуга-вортекс;
- вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объемом 2,0 или 4,0 мл с антикоагулянтом;
- пробирки микроцентрифужные объемом 1,5 мл с крышками, свободные от РНКаз и ДНКаз;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 1,5 мл;
- дозаторы механические или электронные переменного объема одноканальные, позволяющие отбирать объемы 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, объемом 20 мкл, 200 мкл, 1000 мкл;
- штатив для дозаторов;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- ёмкость для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- дезинфицирующий раствор.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Материал для выделения ДНК

Для выделения ДНК используют цельную периферическую кровь сельскохозяйственных и домашних животных.

6.2 Общие требования

Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортирование и предварительная обработка. Неправильное взятие биоматериала может привести к получению недостоверных результатов и, вследствие этого, необходимости его повторного взятия.

Примечание – Взятие, предварительную обработку, хранение и перевозку, передачу исследуемого материала в другие организации осуществляют в соответствии с требованиями нормативных документов.

6.3 Взятие материала на исследование

У лошадей, крупного рогатого скота, овец и коз кровь берут из яремной или хвостовой вены стерильной иглой с соблюдением правил асептики и антисептики, пользуясь отдельной иглой для каждого животного. У свиней кровь берут из уха или из кончика хвоста.

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 2,0, 4,0 или 9,0 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл, или с помощью закрытой системы взятия венозной крови (шприц-контейнер) S-Monovette с ЭДТА. Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку или шприц-контейнер 2-3 раза.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

6.4 Транспортирование и хранение образцов биологического материала

Образцы крови допускается транспортировать и хранить:

- при температуре от 20 °С до 25 °С – не более 24 часов;
- при температуре от 2 °С до 8 °С – не более 2-х недель с момента взятия материала.

ВНИМАНИЕ! Цельную кровь замораживать запрещено!

7 ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК

ВНИМАНИЕ!

1. Манипуляции с кровью должны проводиться с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил.
2. Для внесения и добавления реагентов и образцов используйте наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.
3. При работе с аспиратором используйте наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз.
4. Используемые наконечники меняйте при каждом удалении раствора из пробирки.
5. Для предотвращения контаминации всегда открывайте крышку только той пробирки, с которой идёт работа (внесение образца/реактива, удаление надосадочной жидкости), и закрывайте её после этого. Не допускается работать одновременно с несколькими пробирками с открытыми крышками.
6. При добавлении раствора в пробирку, содержащую биологический материал, вносите раствор аккуратно, не касаясь стенок пробирки. При касании стенки пробирки смените наконечник.
7. Одновременно с выделением НК из биологического материала необходимо подготовить отрицательный контрольный образец и провести его через все этапы пробоподготовки.
8. Неизвестные образцы и контрольные образцы необходимо обрабатывать по единой схеме одновременно согласно данной инструкции.
9. Перед началом работы необходимо включить термостат для прогревания до 90 °С.
10. При прогревании пробирок возможно открывание крышек! Следует 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.», ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

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

7.2 Внесите в каждую пробирку по 1400 мкл промывочного раствора Н.

7.3 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 100 мкл крови. В пробирку, промаркированную «К-», кровь не вносится.

7.4 Внесите в пробирку, промаркированную. «К-» 100 мкл отрицательного контрольного образца.

7.5 Плотно закройте пробирки, тщательно перемешайте содержимое на микроцентрифуге-вортексе в течение 20-30 с.

7.6 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 - 16000 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течении 10 мин.

7.7 Не задевая осадок, удалите надосадочную жидкость, оставив в пробирке 10-20 мкл (осадок+жидкость).

Примечание – В пробирке с отрицательным контрольным образцом осадка не образуется.

7.8 Добавьте в каждую пробирку по 200 мкл лизирующего раствора.

7.9 Плотно закройте пробирки, тщательно перемешайте содержимое на микроцентрифуге-вортексе в течение 20-30 с.

7.10 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 5-10 с.

7.11 Термостатируйте пробирки при 90 °С в течение 20 мин.

7.12 Остудите пробирки до комнатной температуры (от 18 °С до 25 °С) или используйте функцию охлаждения программируемого термостата до 25°С.

7.13 Осадите конденсат центрифугированием на микроцентрифуге-вортексе в течение 5-10 с.

7.14 Перемешайте содержимое пробирки с нейтрализующим раствором на микроцентрифуге-вортексе в течение 5-10 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 5-10 с.

7.15 Добавьте в каждую пробирку по 4 мкл нейтрализующего раствора.

7.16 Плотно закройте пробирки, тщательно перемешайте содержимое на микроцентрифуге-вортексе в течение 10 с.

7.17 Центрифугируйте пробирки при RCF(g) 12000 - 16000 в течении 30-60 с.
Препарат ДНК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

8 ХРАНЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА ДНК

8.1 Препарат ДНК следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С не более 1 месяца, при температуре от минус 25°С до минус 18°С - не более 6 месяцев.

8.2 Если препарат ДНК хранился при температуре от минус 25 °С до минус 18 °С, перед его использованием для постановки ПЦР необходимо разморозить препарат ДНК и отрицательный контрольный образец при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Для препарата ДНК допускается только однократное размораживание!

8.3 Перед использованием препарата ДНК для постановки ПЦР после хранения и/или размораживания необходимо встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортексе в течение 3-5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1-3 с.

Препарат ДНК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР.

9 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ

9.1 Транспортирование

9.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с холодоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.

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

9.2 Хранение

9.2.1 Все компоненты набора реагентов следует хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

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

9.3 Указания по эксплуатации

9.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утвержденной инструкции по применению.

9.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.

9.3.3 После вскрытия упаковки все компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов.

9.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

10 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

10.1 При использовании набора реагентов в ветеринарной клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями национального законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

10.2 Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, повреждением упаковки, подлежат утилизации в соответствии с требованиями национального законодательства в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия.

11 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

11.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

11.2 Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

12 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ

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

13 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Температурный диапазон		Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов		Номер по каталогу
	Использовать до		Изготовитель
	Код партии (серии)		Нестерильно
	Дата изготовления		Осторожно!

14 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения и ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

Производитель: Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС», (ООО «ДНК-Технология ТС»), Россия.

Адрес производителя: 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

Место производства:

- ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.
- ООО «НПО ДНК-Технология», 142281, Россия, Московская область, г. Протвино, ул. Железнодорожная, д. 3.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

Служба клиентской поддержки:

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

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

E-mail: hotline@dna-technology.ru,

www.dna-technology.ru