УТВЕРЖДАЮ
Зам. директора Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека



_____ В.В. Малеев
«__3__» ___03___ 2017 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению комплекта реагентов

для выделения ДНК из клинического материала

«ДНК-сорб-В»

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ.

Комплект реагентов выпускается в 2 формах комплектации:
Форма 1 включает **вариант 50** – комплект реагентов для выделения ДНК из 50 проб, включая контроли;
Форма 2 включает **вариант 100** – комплект реагентов для выделения ДНК из 100 проб, включая контроли.

СОСТАВ.

Реактив	*Описание*	*Вариант 50*		*Вариант 100*	
		Объем (мл)	*Кол-во*	*Объем (мл)*	*Кол-во*
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная жидкость	15	1 флакон	30	1 флакон
Раствор для отмывки 1	Прозрачная бесцветная жидкость	15	1 флакон	30	1 флакон
Раствор для отмывки 2	Прозрачная бесцветная жидкость	50	1 флакон	100	1 флакон
Сорбент универсальный	Суспензия белого цвета	1,25	1 пробирка	1,25	2 пробирки
ТЕ-буфер для элюции ДНК	Прозрачная бесцветная жидкость	5,0	1 пробирка	5,0	2 пробирки

НАЗНАЧЕНИЕ.

Комплект реагентов предназначен для выделения ДНК из клинического материала.

ВЗЯТИЕ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ПРОБ.

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», подготовленными ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, 2012 г.

Материалом для исследования служат: цельная кровь, плазма и другой клинический материал (клеточный осадок мочи, слюна, ликвор, мокрота, биоптаты, бронхо-альвеолярный лаваж и промывные воды бронхов, фекалии).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» 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».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Экстракции, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку[1], биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».
- Использовать и менять при каждой операции одноразовые

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

наконечники для автоматических дозаторов с фильтром[2]. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Комплект реагентов предназначен для одноразового применения для проведения исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).
- Комплект реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять комплект реагентов строго по назначению.
- К работе с комплектом реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).
- Не использовать комплект реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать комплект реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать комплект реагентов по истечении срока годности.
- 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.
- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой, при необходимости обратиться за медицинской помощью.
- Листы безопасности реагентов (SDS – safety data sheet)

[2] Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции с помощью вакуумного отсасывателя используются одноразовые наконечники без фильтра.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

доступны по запросу.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен. При аварийных ситуациях возможно следующее:

- раздражение слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц,
- раздражение кожи у чувствительных лиц,
- аллергическая реакция,
- вред при вдыхании,
- вред при приеме внутрь.

Специфические воздействия комплекта реагентов на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, ТРЕБУЕМЫЕ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.

(с указанием фирм-производителей / поставщиков):

1. Стерильный ламинарный бокс (например, «БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия).
2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, «ТЕРМО 24-15», «Биоком», Россия).
3. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1», г. Ульяновск, Россия).
4. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16 тыс. об/мин (например, «MiniSpin», «Eppendorf», Германия).
5. Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
6. Отдельный набор автоматических дозаторов переменного объема (например, «Ленпипет», Россия).
7. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся микропробирки на 1,5 мл (например, «Axygen», США).
8. Штативы для микропробирок на 1,5 мл (например,

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

«ИнтерЛабСервис», Россия) и наконечников (например, «Axygen», США).
9. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 200 мкл и до 1000 мкл (например, «Axygen», США).
10. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема до 200 мкл и до 1000 мкл (например, «Axygen», США).
11. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
12. Отдельный халат и одноразовые перчатки.
13. Емкость с дезинфицирующим раствором.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

Объем исследуемого материала для выделения ДНК - 0,1 мл.

1. **Лизирующий раствор** и **раствор для отмывки 1** (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
2. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок (включая отрицательный и положительный контроли выделения). Внести в каждую пробирку по **10 мкл ВКО** (если он предусмотрен для анализа данного возбудителя инфекции) и по **300 мкл лизирующего раствора**. Промаркировать пробирки.
3. В пробирки с **лизирующим раствором** и **ВКО** (если используется) внести по **100 мкл проб**, используя наконечники с аэрозольным барьером. В пробирку отрицательного контроля (ОК) выделения внести **100 мкл ОКО**. В пробирку положительного контроля (ПК) выделения внести **90 мкл ОКО** и **10 мкл ПКО** (если он предусмотрен для анализа).
4. Пробы тщательно перемешать на вортексе и прогреть 5 мин при температуре 65 °С (если Вы работаете с плазмой крови, прогревать пробу не нужно). Процентрифугировать 5 с при 5 тыс об/мин на микроцентрифуге. Если проба растворилась не полностью, процентрифугировать пробирку на микроцентрифуге 5 мин при 12 тыс об/мин и использовать для выделения ДНК надосадочную жидкость, перенеся ее в новую пробирку.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

5. Тщательно ресуспендировать **сорбент универсальный** на вортексе. В каждую пробирку отдельным наконечником добавить по **25 мкл** ресуспендированного сорбента универсального. Перемешать на вортексе, поставить в штатив на 2 мин, еще раз перемешать и оставить в штативе на 5 мин.
6. Осадить сорбент универсальный в пробирках центрифугированием при 5 тыс об/мин в течение 30 с. Удалить надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы.
7. Добавить в пробы по **300 мкл раствора для отмывки 1**, перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента универсального. Осадить сорбент универсальный центрифугированием при 5 тыс об/мин на микроцентрифуге в течение 30 с. Удалить надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы.
8. Добавить в пробы по **500 мкл раствора для отмывки 2**, перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента универсального, процентрифугировать 30 с при 10 тыс об/мин на микроцентрифуге. Удалить надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы.
9. Повторить процедуру отмывки, следуя пункту **8**, удалить надосадочную жидкость полностью.
10. Поместить пробирки в термостат при температуре 65 °С на 5-10 мин для подсушивания сорбента универсального. При этом крышки пробирок должны быть открыты.
11. В пробирки добавить по **50 мкл ТЕ-буфера для элюции ДНК**. Перемешать на вортексе. Поместить в термостат при температуре 65 °С на 5 мин, периодически встряхивая на вортексе.
12. Процентрифугировать пробирки при 12 тыс об/мин в течение 1 мин на микроцентрифуге. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

Очищенную ДНК можно хранить в течение 1 нед. при температуре от 2 до 8 °С, и в течение года при температуре не выше минус 16 °С.

Эффективность выделения ДНК составляет 50 – 70%.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.

Срок годности. 12 мес. Комплект реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Транспортирование. При температуре от 2 до 25 °С.

Хранение. Комплект реагентов хранить при температуре от 2 до 25 °С.

Условия отпуска. Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на качество комплекта реагентов **«ДНК-сорб-В»** направлять по адресу 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: cs@pcr.ru[3]

Заведующий НПЛ ОМДиЭ
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора — Е.Н. Родионова

[3] Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ

REF	Номер по каталогу		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
LOT	Код партии	Σ	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов
IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro		Использовать до
VER	Дата изменения		Обратитесь к инструкции по применению
	Температурный диапазон		Дата изготовления
	Изготовитель		

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru