

фотографическое изображение
верно



Гусов
ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ № _____

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Синтол»

А.Кузубов

«04» декабря 2017 г.



Медицинское изделие для диагностики in vitro

**Реагент для предобработки образцов, предположительно содержащих ДНК
микобактерий (Амплитуб-Преп) по ТУ 21.20.23.110-002-46395995-2015**

ИНСТРУКЦИЯ по применению

2017

1 НАЗНАЧЕНИЕ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИН ВИТРО (далее МИ ИВД)

1.1 Полное название

Реагент для предобработки образцов, предположительно содержащих ДНК микобактерий (Амплитуб-Преп) по ТУ 21.20.23.110-002-46395995-2015.

1.2 Предназначение МИ ИВД и его диагностическая роль

Реагент «Амплитуб-Преп» предназначен для преаналитической процедуры подготовки диагностических клинических образцов и биологических культур, предположительно содержащих ДНК микобактерий, перед экстракцией нуклеиновых кислот для дальнейших исследований микобактерий молекулярно-генетическими методами.

1.3 Область применения МИ ИВД

Область применения МИ ИВД – клиническая лабораторная диагностика туберкулеза, научные исследования. Набор может быть использован в учреждениях медицины и здравоохранения, в лабораториях медицинских организаций, оказывающих специализированную медицинскую помощь по профилю «фтизиатрия», в научно-исследовательских лабораториях и учреждениях.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА МИ ИВД

2.1 Состав МИ ИВД.

Реагент	Описание	Объем	Кол-во
Амплитуб-Преп	прозрачная бесцветная жидкость	1 л	1 флакон

МИ рассчитано на обработку 2000 образцов деконтаминированных осадков клинического материала, или 2000 образцов культур с жидких питательных сред, или 1000 образцов культур с плотных питательных сред, или 200 образцов нативного клинического материала (количество может меняться в зависимости от объема образца).

2.2. Принцип метода

Выделение ДНК микобактерий из диагностического материала затруднено из-за большого разнообразия видов и характера диагностического клинического материала, а также особенностей строения клеточной стенки бактерий рода *Mycobacterium*.

Реагент «Амплитуб-Преп» содержит компоненты, обладающие муколизующими свойствами, и компоненты, способствующие разрушению внешнего липидного слоя клеточной стенки микобактерий. Предобработка диагностических клинических образцов перед процедурой экстракции ДНК с помощью реагента «Амплитуб-Преп» обеспечивает полную гомогенизацию и разжижение респираторных образцов, разрушение внешнего слоя клеточной стенки микобактерий при полной сохранности ДНК микобактерий.

2.2 Ограничения метода

При неэффективном разжижении или неполной гомогенизации биологического материала эффективность экстракции ДНК может быть недостаточной и/или привести к ингибированию при последующем анализе методом ПЦР-РВ (ложноотрицательный результат). Ложноотрицательный результат ПЦР-РВ и эффективность экстракции ДНК выявляется с помощью специальных компонентов, например, внутреннего положительного контрольного образца ДНК, содержащихся в наборах для выделения ДНК и проходящих все этапы выделения ДНК с последующим анализом методом ПЦР-РВ.

3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1 Чувствительность

Чувствительность реакции ПЦР-РВ на выявление ДНК МБТ после обработки диагностических клинических образцов (нативный материал и деконтаминированные осадки) и культур микобактерий МИ «Реагент для предобработки образцов, предположительно содержащих ДНК микобактерий (Амплитуб Преп) по ТУ 21.20.23.110-002-46395995-2015» при исследовании культурально

подтвержденных "положительных" проб (титр бактерий в образцах - от 50 клеток МБТ/мл), составляет 100% (не менее 99% с доверительной вероятностью 90%).

3.2 Специфичность

Специфичность реакции ПЦР-РВ на выявление ДНК МБТ после обработки диагностических клинических образцов (нативный материал и деконтаминированные осадки) МИ «Реагент для предобработки образцов, предположительно содержащих ДНК микобактерий (Амплитуб-Преп) по ТУ 21.20.23.110-002-46395995-2015» при исследовании культурально-подтвержденных "отрицательных" проб, составляет 100% (не менее 99% с доверительной вероятностью 90%).

3.3 Разжижение вязких образцов

Инкубация вязкого клинического материала (мокрота) в течение 1 часа с МИ «Реагент для предобработки образцов, предположительно содержащих ДНК микобактерий (Амплитуб-Преп) по ТУ 21.20.23.110-002-46395995-2015» приводит к достаточному разжижению диагностического материала (до величины 0,4 Па·с).

4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С РЕАГЕНТОМ

Работу проводят в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 (с дополнением СП 1.3.2518-09) «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», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности», СП 3.1.2.3114-13 «Профилактика туберкулеза», Приказа МЗ РФ № 109 от 21 марта 2003 г. «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации», Приказа МЗ РФ № 951 от 29 декабря 2014 г. «Об утвержде-

нии методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулеза органов дыхания».

Потенциальный риск применения МИ ИВД – класс 2а. Исследования материала на наличие микобактерий туберкулезного комплекса и нетуберкулезных микобактерий молекулярно-генетическими методами проводят в учреждениях, имеющих разрешение на работу с возбудителями III-IV группы патогенности. Необходимо одновременное обеспечение и соблюдение персоналом правил биологической безопасности и требований к организации и проведению данных работ с целью предотвращения контаминации нуклеиновыми кислотами исследуемых проб, помещений и оборудования.

4.1 Необходимость обучения персонала

Для работы с данным реагентом необходимо участие специалиста с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедшего подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности, получившие дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики. Персонал должен иметь навыки работы с биохимическими реактивами и современным лабораторным оборудованием.

4.2 Меры безопасности, позволяющие предохранять оператора

Все компоненты МИ ИВД в используемых концентрациях являются нетоксичными, вредного влияния на организм оператора не оказывают. При работе с реагентом следует соблюдать обычные меры предосторожности для лабораторий:

- пользоваться лабораторными перчатками и надевать лабораторные халаты;
- не принимать пищу, пить или курить в лабораторных помещениях;
- после работы с пробами и реактивами следует тщательно вымыть руки водой с мылом.

Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками, при попадании на них МИ ИВД промыть большим количеством воды. При приеме внутрь МИ ИВД следует немедленно обратиться за медицинской помощью.

Реагент «Амплитуб-Преп» является легковоспламеняющейся жидкостью. Все работы с легковоспламеняющимися жидкостями должны проводиться с использованием приточно-вытяжной вентиляции, вдали от огня и источников искрообразования, электрооборудование и освещение должно быть взрывобезопасно.

Спецификации по безопасности предоставляются по запросу.

4.3 Необходимые меры предосторожности в отношении влияния физических факторов

При использовании МИ ИВД нет необходимости принимать меры предосторожности в отношении влияния магнитных полей, внешних электрических воздействий, электростатических разрядов, давления или перепадов давления, перегрузки. МИ ИВД относится к легковоспламеняющимся жидкостям. Все работы с легковоспламеняющимися жидкостями должны проводиться с использованием приточно-вытяжной вентиляции, вдали от источников термического воспламенения.

4.4 Необходимые меры предосторожности против специальных рисков

При использовании МИ ИВД нет необходимости принимать меры предосторожности против любых специальных рисков при использовании или реализации, поскольку в состав изделия не входят вещества человеческого или животного происхождения с учетом их потенциальной инфекционной природы.

5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С РЕАГЕНТОМ

5.1 Указания о необходимости использования специального оборудования

Работу с реагентом следует проводить в шкафу биологической безопасности (ШББ) 2 класса (например, БМБ-II-«Ламинар-С-1,5», ЗАО «Ламинарные системы», г. Миасс, Россия), установленном в рабочей зоне 1 (МУ 1.3.2569-09).

5.2 Другое используемое оборудование

Орбитальный шейкер (например, Elmi S-302.10L/S-302.20L);
центрифуга для пробирок объемом 50 мл до 3000 g (например, Eppendorf 5810);
микроцентрифуга-встряхиватель (например, «Циклотемп-901»);
штативы для пробирок объемом 50 мл;
штативы для микропробирок на 1,5 мл;
центрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5-2 мл до 13 тыс. об/мин (например, Eppendorf 5424);
холодильник на 2-8 °С (для хранения образцов).

5.3 Лабораторная посуда

Емкости для сброса наконечников и микропробирок.

5.4 Материалы и реагенты, не входящие в состав МИ ИВД

Полипропиленовые центрифужные пробирки объемом 50 мл с завинчивающимися крышками (далее – пробирки объемом 50 мл);
микропробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5-2 мл;
одноразовые пипетки Пастера объемом 1-3,5 мл;
одноразовые медицинские халаты и одноразовые медицинские перчатки;
средства индивидуальной защиты при работе с материалом III-IV групп патогенности;
комплект средств для обработки рабочего места.

6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ПРОБЫ

При использовании МИ ИВД в качестве исследуемого материала может быть любой нативный клинический материал, предназначенный для анализа микобактерий туберкулеза, деконтаминированные осадки, полученные в результате стандартных процедур пробоподготовки при микробиологических исследованиях (Приказ №109 Минздрава РФ от 21 марта 2003 г., приложение 11), образцы культур.

В соответствии с Приказом МЗ РФ № 109 от 21 марта 2003 г. «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации» диагностическим клиническим материалом для исследований служит: мокрота и отделяемое верхних дыхательных путей (пробы со слизью), промывные воды бронхов (ПВБ), бронхоальвеолярные смывы (БАС), бронхоальвеолярная лаважная жидкость (БАЛЖ), биоптаты, промывные воды желудка, моча, плевральная жидкость, спинномозговая жидкость, перикардальная жидкость, синовиальная жидкость, асцитическая жидкость, гной и гнойно-некротические массы, отделяемое половых путей, в том числе менструальная кровь, секционный материал.

6.1 Условия транспортирования и возможного хранения анализируемых проб

Транспортирование материала в лабораторию для исследований проводят при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С в течение 1 суток в соответствии с СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».

7 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1 Обработка биологического материала¹

7.1.1 Обработка нативного клинического материала

7.1.1.1 Обработка нативного материала мокроты, отделяемого верхних дыхательных путей, биоптата, синовиальной жидкости, гноя, отделяемого половых путей

К образцам в 50 мл пробирках или контейнерах необходимо добавить реагент «Амплитуб-Преп» в пропорции 1:1, но не менее 1 мл. Содержимое пробирки перемешать до полной гомогенизации на орбитальном шейкере. Инкубировать при комнатной температуре в течение как минимум 1 часа. Одноразовой пастеровской пипеткой отобрать 1 мл разжиженного образца в 1,5 мл чистую пробирку. Центрифугировать 5 мин. при 10 000 об/мин. При выделении ДНК ручным методом немедленно после центрифугирования удалить надосадочную жидкость путем аспирации одноразовой пастеровской пипеткой, остаточный объем супернатанта должен составлять не более 0,2 мл. При выделении ДНК на автоматизированной станции образцы после центрифугирования сразу помещаются в рабочий штатив станции, так как удаление супернатанта с реагентом происходит автоматически на первом этапе программы.

7.1.1.2 Обработка нативного материала мочи

Для обработки образцов мочи используют метод накопления осадка путем центрифугирования при 3000g в течении 15 мин. К осадку необходимо добавить реагент «Амплитуб-Преп» в пропорции 1:1, но не менее 1 мл. Далее обработка аналогична описанной для образцов мокроты.

7.1.1.3 Обработка жидкого нативного материала (ПВБ, БАЛЖ, БАС, промывные воды желудка, плевральная жидкость, спинномозговая жидкость, перикардальная жидкость, асцитическая жидкость)

Жидкие образцы центрифугируют при 3000g в течение 15 мин. и удаляют надосадочную жидкость. К осадку необходимо добавить реагент «Амплитуб-

¹ Для повышения эффективности выделения на этапе инкубации можно прогреть пробирки, содержащие биологический материал с добавленным «Амплитуб-Преп», в термостате при 65°C 20 минут.

Преп» в пропорции 1:1, но не менее 1 мл. Далее обработка аналогична описанной для образцов мокроты.

7.1.1.4 Обработка секционного и операционного материала

Материал гомогенизировать в полном объеме в фарфоровой ступке или в одноразовой чашке Петри с помощью пестика или скальпеля (дополнительно для удобства можно использовать пинцет). Перенести гомогениizat в 50 мл пробирку. К материалу необходимо добавить реагент «Амплитуб-Преп» в пропорции 1:1, но не менее 1 мл. Далее обработка аналогична описанной для образцов мокроты.

7.1.2 Обработка деконтаминированных осадков

Деконтаминированные осадки получают в результате стандартных процедур пробоподготовки при микробиологических исследованиях (Приказ №109 Минздрава РФ от 21 марта 2003 г., приложение 11). Основными стандартными методами пробоподготовки образцов при микробиологических исследованиях являются методы обработки материала NALC-NaOH или Na_3PO_4 .

7.1.2.1 Обработка деконтаминированного осадка NALC-NaOH

0,5 мл осадка помещают в 1,5-2,0 мл пробирку и добавляют 0,5 мл реагента «Амплитуб-Преп», перемешивают на встряхивателе и инкубируют при комнатной температуре в течение как минимум 1 часа. Центрифугируют 5 мин. при 10 000 об/мин. При выделении ДНК ручным методом немедленно после центрифугирования удаляют надосадочную жидкость путем аспирации одноразовой пастеровской пипеткой, остаточный объем супернатанта должен составлять не более 0,1-0,2 мл. При выделении ДНК на автоматизированной станции образцы после центрифугирования сразу помещают в рабочий штатив станции, так как удаление супернатанта с реагентом происходит автоматически на первом этапе программы.

7.1.2.2 Обработка деконтаминированного осадка Na_3PO_4

0,5 мл осадка помещают в 1,5-2,0 мл пробирку и добавляют 1-1,5 мл дистиллированной воды, перемешивают на встряхивателе. Центрифугируют 5 мин при 10 000 об/мин и немедленно после центрифугирования удаляют супернатант путем аспирации одноразовой пипеткой Пастера. Добавляют 0,5

мл реагента «Амплитуб-Преп», перемешивают на встряхивателе и инкубируют при комнатной температуре в течение как минимум 1 часа. Центрифугируют 5 мин. при 10 000 об/мин. При выделении ДНК ручным методом немедленно после центрифугирования удаляют надосадочную жидкость путем аспирации одноразовой пастеровской пипеткой, остаточный объем супернатанта должен составлять не более 0,1-0,2 мл. При выделении ДНК на автоматизированной станции образцы после центрифугирования сразу помещают в рабочий штатив станции, так как удаление супернатанта с реагентом происходит автоматически на первом этапе программы.

7.1.3 Обработка культур микобактерий

7.1.3.1 Культуры с жидких питательных сред

Пробирку с культурой перемешивают на встряхивателе и отбирают стерильной одноразовой пастеровской пипеткой по 0,5 мл суспензии клеток в 1,5 мл микропробирки, содержащие 0,5 мл реагента «Амплитуб-Преп». Пробирки перемешивают на встряхивателе и инкубируют при комнатной температуре в течение как минимум 1 часа. Центрифугируют 5 мин. при 10 000 об/мин. При выделении ДНК ручным методом немедленно после центрифугирования удаляют надосадочную жидкость путем аспирации одноразовой пастеровской пипеткой, остаточный объем супернатанта должен составлять не более 0,1-0,2 мл. При выделении ДНК на автоматизированной станции образцы после центрифугирования сразу помещают в рабочий штатив станции, так как удаление супернатанта с реагентом происходит автоматически на первом этапе программы.

7.1.3.2 Культуры с плотных питательных сред

Бактериальную массу с плотных питательных сред собирают петлёй (не более 1-2 колоний) и помещают в 1 мл реагента «Амплитуб-Преп» в микропробирке объемом 1,5 мл. Пробирки перемешивают на встряхивателе и инкубируют при комнатной температуре в течение как минимум 1 часа. Центрифугируют 5 мин. при 10 000 об/мин. При выделении ДНК ручным методом немедленно после центрифугирования удаляют надосадочную жидкость путем аспирации одноразовой пастеровской пипеткой, остаточный объем супернатанта должен составлять не более 0,1-0,2 мл. При выделении

ДНК на автоматизированной станции образцы после центрифугирования сразу помещают в рабочий штатив станции, так как удаление супернатанта с реагентом происходит автоматически на первом этапе программы.

7.2 Условия транспортирования и возможного хранения анализируемых проб

После проведения обработки проб допускается их транспортировка и (или) хранение при температуре от 20 до 25 °С в течение 4 суток, при температуре от 4 до 8 °С в течение 30 суток.

7.3 Меры предосторожности к материалу исследования

Учет, хранение, передача и транспортирование биологического материала, подозрительного на наличие возбудителя туберкулеза должны осуществляться в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими правилами по безопасности работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) (СП 1.3.2322-08 (СП 1.3.2518-09)) и действующими санитарными правилами о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности.

Диагностический материал утилизируют по классу В, как чрезвычайно эпидемиологически опасные отходы в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами (СанПиН 2.1.7.2790-10).

7.4 Обеззараживание проб

Обеззараживание остатков исследуемого материала в Рабочей зоне 1 осуществляют в соответствии с СП 1.3.2322-08 (СП 1.3.2518-09).

8 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ МИ ИВД

8.1 Условия хранения МИ ИВД

В соответствии с ТУ 21.20.23.110-002-46395995-2015– в сухом, защищенном от света месте при температуре от плюс 15 до плюс 25 °С.

8.2 Условия транспортирования МИ ИВД

Транспортирование МИ ИВД «Аплитуб-Преп» должно производиться в соответствии с ТУ 21.20.23.110-002-46395995-2015 крытым транспортом (автомобильным, железнодорожным либо воздушным) при температуре от плюс 15 до плюс 25 °С.

8.3 Срок годности МИ ИВД

Срок годности МИ ИВД составляет 12 месяцев с даты выпуска предприятием-изготовителем. Серии реагента с истекшим сроком годности применению не подлежат. Срок годности вскрытого реагента соответствует сроку годности, указанному на этикетке для невскрытого реагента, если в инструкции не указано иное.

8.4 Информация по безопасной утилизации

Использованные пробирки, наконечники, перчатки, ветошь для обработки поверхностей в ШББ собирают в пластиковые закрывающиеся емкости, выносят в специально предназначенное вспомогательное помещение с целью последующей инактивации (МУ 1.3.2569-09) и утилизации по классу Б, как эпидемически опасные отходы (СанПиН 2.1.7.2790-10).

Реагент с истекшим сроком годности, а также в случае повреждения упаковки, утилизируют по классу Г, как токсикологически опасные отходы 1-4 классов опасности (СанПиН 2.1.7.2790-10).

8.5 Гарантийные обязательства производителя

Предприятие-производитель гарантирует соответствие функциональных характеристик МИ ИВД требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности (12 месяцев) при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество МИ ИВД «АмплиТуб-Преп» направлять на предприятие-изготовитель ООО «Синтол» (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 42, тел. (495)984-69-93, факс. (499)977-74-55 E.mail: syntol@syntol.ru).

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению МИ ИВД, нежелательных реакций при его использовании, фактов и

обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинским работникам при применении МИ ИВД, рекомендуется направить сообщение на предприятие-изготовитель ООО «Синтол» по адресу, указанному выше, и на уполномоченную государственную регулируемую организацию в соответствии с действующим законодательством.

Прошито, пронумеровано,
проброшюровано 14 листов



Генеральный директор
ООО «Синтол»

А.В. Кузубов

Прошито, пронумеровано,
проброшюровано 14 листов



Директор ФГБНУ «ЦНИИТ»

проф. А. Эргешов