

УТВЕРЖДЕНА

УТВЕРЖДАЮ

Приказом Росздравнадзора

от _____ 200__ г № _____



Генеральный директор

ДНК-Технология»

Д.Ю.Трофимов

_____ 2007 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для выявления ДНК

боррелии бургдорфери (*Borrelia burgdorferi*)

методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)

(БОРРЕЛИО-ГЕН)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов БОРРЕЛИО-ГЕН предназначен для выявления *in vitro* ДНК боррелии бургдорфери (*Borrelia burgdorferi*) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в биологическом материале (в образцах плазмы крови человека и в иксодовых клещах).

1.2. Набор реагентов БОРРЕЛИО-ГЕН может быть использован в клинической практике для диагностики болезни Лайма.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Принцип метода основан на использовании процесса амплификации ДНК, заключающейся в повторяющихся циклах: температурной денатурации ДНК,



отжига праймеров (затравок) с комплементарными последовательностями и последующей достройкой полинуклеотидных цепей ДНК-полимеразой.

В наборе БОРРЕЛИО-ГЕН в смесь для амплификации добавлен внутренний контрольный образец (ВК), предназначенный для оценки эффективности протекания полимеразной цепной реакции.

В смесь для амплификации введены ДНК-зонды, каждый из которых содержит флуоресцентную метку и гаситель флуоресценции. В случае образования специфичного продукта ДНК-зонд разрушается, что ведет к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксируется специальными приборами.

ДНК-зонды, использующиеся для детекции продуктов амплификации фрагмента генома боррелии бургдорфери и внутреннего контрольного образца, мечены флуоресцентными метками FAM и HEX соответственно, что позволяет отдельно регистрировать результаты амплификации искомой ДНК и внутреннего контрольного образца.

Для анализа продуктов ПЦР можно использовать детектирующие амплификаторы, специализированные детекторы флуоресценции (ПЦР-детекторы) или метод электрофореза в агарозном геле.

Для повышения чувствительности и специфичности реакции предусмотрено применение «горячего» старта, который обеспечивается методикой приготовления реакционной смеси, состоящей из двух слоев, разделенных прослойкой из парафина. Смешение слоев и превращение их в амплификационную смесь происходит только при расплавлении парафина, что

исключает неспецифический отжиг праймеров на ДНК-мишени при начальном прогреве пробирки.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

Набор состоит из следующих комплектов:

а) комплект реагентов для выделения нуклеиновых кислот включает:

- лизирующий раствор – 1 флакон (30 мл);
- реагент для преципитации – 1 флакон (40 мл);
- промывочный раствор №1 – 1 флакон (50 мл);
- промывочный раствор №2 – 1 флакон (30 мл);
- буфер для растворения – 4 пробирки (по 1,25 мл);

б) комплект реагентов для ПЦР-амплификации.

Вариант №1 включает:

- смесь для амплификации, запечатанную парафином – 100 пробирок (по 20 мкл);
- раствор Таq-полимеразы – 2 пробирки (500 мкл);
- буферный раствор «ПЦР-буфер» – 1 пробирка (200 мкл);
- минеральное масло – 2 пробирки (по 1,0 мл);
- положительный контрольный образец ДНК – 1 пробирка (150 мкл).

Вариант №2 включает:

- смесь для амплификации высушенную – 100 пробирок;
- растворитель – 2 пробирки (по 1,5 мл);
- минеральное масло – 2 пробирки (по 1,0 мл);
- положительный контрольный образец ДНК – 1 пробирка (150 мкл).

в) комплект реагентов для детекции ДНК методом электрофореза включает:

- смесь для электрофореза - 1 пакет (16,9 г);
- агарозный гель - 5 пластин.

В состав смеси для амплификации входят: ПЦР-буфер, дезоксирибонуклеотидтрифосфаты, праймеры, флуоресцентные ДНК-зонды, внутренний контрольный образец.

2.3. Время проведения анализа - 5 ч.

2.4. Набор рассчитан на проведение 100 определений, включая анализ неизвестных образцов, положительных контрольных образцов и отрицательных контрольных образцов.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ

ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

3.1 СПЕЦИФИЧНОСТЬ

В образцах биологического материала, содержащих ДНК боррелии бургдорфери, после проведения реакции амплификации детектирующий амплификатор или ПЦР-детектор должны регистрировать положительный результат. При использовании метода электрофореза должна быть видна полоса оранжево-красного цвета, соответствующая фрагменту генома боррелии бургдорфери размером 184 п.н. (пар нуклеотидов).

В образцах биологического материала, не содержащих ДНК боррелии бургдорфери, детектирующий амплификатор или ПЦР-детектор должны регистрировать отрицательный результат. При использовании метода электрофореза полоса оранжево-красного цвета, соответствующая фрагменту генома боррелии бургдорфери размером 184 п.н., отсутствует, а полоса,

соответствующая внутреннему контрольному образцу размером 560 п.н., должна быть отчетливо видна.

3.2 ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Чувствительность: не более 2000 геном-эквивалентов ДНК боррелии бургдорфери на 1,0 мл образца.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- 4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (ГОСТ Р 51609-2000).
- 4.2. Мерами предосторожности при работе с набором реагентов БОРРЕЛИО-ГЕН является соблюдение «Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противозидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).
- 4.3. Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.
- 4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые перчатки без талька.
- 4.5. При работе с набором следует использовать только новые наконечники и пробирки.
- 4.6. Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.
- 4.7. Выделение ДНК следует проводить в ПЦР-боксах или в ламинарных шкафах с выключенным ламинарным потоком.

- 4.8. Для предотвращения контаминации этапы выделения ДНК, ПЦР и электрофореза следует проводить в отдельных помещениях или тщательно изолированных зонах, снабженных комплектами полуавтоматических пипеток, халатами, стеклянной посудой и прочими принадлежностями.
- 4.9. Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.
- 4.10. Обработку помещений проводят в соответствии с требованиями СП 1.2.731-99. Все рабочие поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных санитарными правилами.
- 4.11. Поверхности рабочих столов, а также рабочих помещений следует обрабатывать бактерицидными облучателями до и после проведения работ в течение 1 ч.
- 4.12. Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе с набором, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.
- 4.13. Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.
- 4.14. Запрещается снимать крышку с электрофоретической камеры, если она подключена к источнику питания.



4.15. При работе с включенным трансиллюминатором необходимо пользоваться защитным экраном или специальной защитной маской.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать Методическим указаниям 1.3.1888-04.

При работе с набором реагентов БОРРЕЛИО-ГЕН требуются следующие оборудование и материалы:

- микроцентрифуга/вортекс;
- обычный амплификатор или детектирующий амплификатор;
- ПЦР-детектор;
- термостат твердотельный, поддерживающий температуру 65 °С;
- холодильник бытовой с морозильной камерой;
- центрифуга со скоростью вращения ротора 13000 об/мин;
- одноразовые наконечники с фильтром для полуавтоматических пипеток с маркировкой "RNAase-free, DNAase-free" объемом 1-20 мкл; 1-50 мкл; 1-200 мкл; 100-1000 мкл;
- пестики-гомогенизаторы для пробирок пластиковых вместимостью 1,5 мл;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным объемом, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,5-20 мкл, 20-200 мкл, 200-1000 мкл;
- пробирки пластиковые вместимостью 1,5 мл;
- перчатки резиновые;
- 96% этанол;

- физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный;
- контейнер с дезинфицирующим раствором.

При детекции методом электрофореза:

- источник постоянного тока;
- камера для электрофореза;
- трансиллюминатор;
- колба мерная вместимостью 1,0 л;
- дистиллированная вода;
- стальная проволока диаметром 1,0 мм.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1 Образцы плазмы крови человека.

6.1.1. Взятие крови проводится в пластиковые пробирки вместимостью 2,5 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2 мг/мл. Для перемешивания содержимого пробирку переворачивают 2-3 раза после взятия материала.

В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

Транспортировать и хранить образцы крови до начала исследования следует при температуре 2-8 °С.

6.1.2. Центрифугировать пробирки с кровью при 3000 об/мин в течение 20 мин при комнатной температуре (18-25 °С).

6.1.3. Отобрать верхнюю фракцию (плазма) и перенести в пластиковую пробирку вместимостью 1,5 мл.

ВНИМАНИЕ! Время от взятия крови до получения плазмы не должно превышать 6 часов.

Хранить полученную плазму можно при температуре минус 20 °С не более 3 мес.

6.2. Иксодовые клещи.

6.2.1. Живого клеща поместить в чистую посуду, в которую предварительно необходимо положить кусок влажной ткани или смоченную водой салфетку (чтобы не допустить высыхания клеща).

Транспортировать и хранить живого клеща до начала исследования рекомендуется при температуре 2-8 °С в увлажненной среде не более 48 часов.

6.2.2. Для исследования поместить клеща в пластиковую пробирку вместимостью 1,5 мл.

6.2.3. Добавить 1,0 мл 96% этанола в пробирку с клещом, встряхнуть пробирку в течение 3-5 с и центрифугировать в течение 3-5 с на микроцентрифуге/вортексе.

6.2.4. Полностью удалить надосадочную жидкость.

6.2.5. Добавить 1,0 мл физиологического раствора стерильного, встряхнуть пробирку в течение 3-5 с и центрифугировать в течение 3-5 с на микроцентрифуге/вортексе.

6.2.6. Полностью удалить надосадочную жидкость.

Подготовленный материал необходимо сразу использовать для выделения ДНК.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Примечание. В случае выпадения осадка в лизирующем растворе, флакон прогреть при температуре 65 °С до полного растворения осадка.

При использовании в качестве анализируемого материала плазмы крови человека выполнить пункт 7.1.1, при использовании иксодового клеща – 7.1.2.

Далее в обоих случаях выполнить пункты 7.1.3 – 7.1.14.

7.1.1. Образцы плазмы крови

7.1.1.1. Промаркировать необходимое количество новых пластиковых пробирок объемом 1,5 мл с учетом пробирки для отрицательного контрольного образца (К-).

7.1.1.2. Внести в каждую пробирку по 300 мкл лизирующего раствора, не касаясь края пробирки.

7.1.1.3. Добавить в каждую пробирку по 100 мкл образца (кроме пробирки (К-)). В пробирку, промаркированную (К-), добавить 100 мкл физиологического раствора стерильного.

7.1.1.4. Плотно закрыть крышки пробирок, встряхнуть на вортексе в течение 3-5 с.

7.1.1.5. Термостатировать пробирки при 65 °С в течение 15 мин, осадить конденсат центрифугированием при 13000 об/мин в течение 30 с.

7.1.2. Иксодовые клещи

7.1.2.1. Добавить в каждую пробирку с подготовленным клещом (п.6.2.6) по 300 мкл лизирующего раствора.

7.1.2.2. Плотно закрыть крышки пробирок, встряхнуть на вортексе в течение 3-5 с.

7.1.2.3. Термостатировать пробирки при 65 °С в течение 1 часа.

7.1.2.4. Растереть клеца пестиком-гомогенизатором (отдельным пестиком для каждой пробирки).

7.1.2.5. Плотно закрыть крышки пробирок, встряхнуть в течение 3-5 с и центрифугировать на микроцентрифуге/вортексе в течение 3-5 с.

7.1.2.6. Перенести надосадочную жидкость в новые пластиковые пробирки объемом 1,5 мл.

7.1.3. Добавить в каждую пробирку по 400 мкл реагента для преципитации, закрыть крышки пробирок и встряхнуть на вортексе в течение 3-5 с.

7.1.4. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 15 мин при комнатной температуре (18-25 °С).

7.1.5. Не задевая осадок, полностью удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником.

7.1.6. Добавить к осадку по 500 мкл промывочного раствора №1, закрыть крышки пробирок и перемешать, аккуратно перевернув пробирки 3-5 раз.

7.1.7. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре.

7.1.8. Не задевая осадок, полностью удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником.

7.1.9. Добавить к осадку по 300 мкл промывочного раствора №2, закрыть крышки пробирок и перемешать, аккуратно перевернув пробирки 3-5 раз.

7.1.10. Центрифугировать пробирки при 13000 об/мин в течение 5 мин при комнатной температуре (18-25 °C).

7.1.11. Не задевая осадок, полностью удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником.

7.1.12. Открыть крышки пробирок и высушить осадок при температуре 65 °C в течение 5 мин.

7.1.13. Добавить к осадку 50 мкл буфера для растворения, закрыть крышки пробирок и прогреть пробирки при температуре 65 °C в течение 10 мин.

7.1.14. Осадить конденсат центрифугированием пробирок при 13000 об/мин в течение 30 с.

Препарат ДНК готов для проведения ПЦР.

Препарат ДНК можно хранить при температуре минус 20 °C не более 6 мес или при температуре минус 70 °C не более 1 года.

7.2. ПОДГОТОВКА И ПРОВЕДЕНИЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

7.2.1. Промаркировать необходимое количество пробирок со смесью для амплификации: для исследуемых образцов, одну для положительного контрольного образца (К+) и одну для отрицательного контрольного образца (К-). При использовании для учета результатов амплификации ПЦР-детектора промаркировать дополнительно по две пробирки (ФОН) для контроля фона флуоресценции.

7.2.2. При использовании комплекта реагентов для ПЦР-амплификации варианта №1 во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина,

добавить по 10 мкл раствора Таq-полимеразы. В пробирки, промаркированные ФОН, добавить по 10 мкл ПЦР-буфера.

При использовании комплекта реагентов для ПЦР-амплификации варианта №2 внести во все пробирки по 30 мкл растворителя.

7.2.3. В каждую пробирку добавить по 1 капле (20 мкл) минерального масла, закрыть крышки пробирок.

7.2.4. Пробирки перенести в помещение, предназначенное для выделения ДНК.

Внимание! При использовании комплекта реагентов для ПЦР-амплификации варианта №1 препараты ДНК и контрольные образцы вносить в пробирки, не повреждая слой парафина.

7.2.5. Внести в пробирки (кроме пробирок (К-), (К+), ФОН) по 5,0 мкл соответствующего препарата ДНК.

7.2.6. В пробирки, маркированные (К-) и ФОН, внести 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК.

7.2.7. В пробирку, маркированную (К+), внести 5,0 мкл положительного контрольного образца ДНК.

7.2.8. Центрифугировать все пробирки в течение 3-5 с на микроцентрифуге/вортексе.

7.2.9. Установить все пробирки, за исключением пробирок из варианта №2, маркированных ФОН, в блок амплификатора и провести ПЦР в режиме, приведенном для амплификаторов с активным регулированием, с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл (таблица 1-3). При использовании комплекта

реагентов для ПЦР-амплификации варианта №2 пробирки, маркированные ФОН, поместить в холодильник при температуре 2-8 °С.

Продукты амплификации можно хранить при температуре 2-8 °С не более 5 суток.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АМПЛИФИКАЦИИ

8.1. Регистрация результатов амплификации с использованием ПЦР-детектора.

Таблица 1. Режим амплификации для амплификатора «Терцик» (ЗАО «НПФ ДНК-Технология»).
Алгоритм регулирования: «точный».

№№ п.п.	Температура	Время	Количество циклов
1.	94 °С	1 мин	1
2.	94 °С	5 с	5
	64 °С	5 с	
	67 °С	5 с	
3.	94 °С	1 с	40
	64 °С	5 с	
	67 °С	5 с	
4.	10 °С	Хранение	

Таблица 2. Режим амплификации для детектирующего амплификатора ДТ-322 (ЗАО «НПФ ДНК-Технология»).

№№ п.п.	Температура	Время	Регистрация результатов	Количество циклов
1.	80 °С	1 мин		1
	94 °С	1 мин 30 с		
2.	94 °С	30 с	*	5
	64 °С	15 с		
3.	94 °С	10 с	*	45
	64 °С	15 с		
4.	10 °С	Режим «Хранение» прибора		

**Таблица 3. Режим амплификации
для детектирующего амплификатора iCycler iQ (Bio-Rad).**

Программа считывания динамических факторов лунок dynamicwftmo				
№№ п.п.	Температура	Время	Регистрация результатов	Количество циклов
1.	80 °C 94 °C	1 мин 1 мин 30 с		1
2.	94 °C 64 °C	30 с 45 с		5
3.	80 °C	30 с	*	2
Режим амплификации				
	Температура	Время	Регистрация результатов	Количество циклов
1.	94 °C 64 °C	10 с 45 с	*	45
2.	10 °C	Режим «Hold» прибора		

После прохождения реакции амплификации пробирки (в том числе пробирки, маркированные ФОН) поместить в ПЦР-детектор, оформить протокол и провести регистрацию результатов в соответствии с инструкцией к прибору (пороговые значения для специфического продукта составляют 1,75-2,10, для внутреннего контрольного образца - 2,50).

8.2. Регистрация результатов амплификации с использованием детектирующего амплификатора ДТ-322 (ЗАО «НПФ ДНК-Технология»).

Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации. Оформление протокола (тип анализа «Качественный») и анализ результатов проводится в соответствии с инструкцией к прибору (см. «Руководство по эксплуатации» для ДТ-322).

8.3. Регистрация результатов амплификации с использованием детектирующего амплификатора iCycler iQ (Bio-Rad).

Регистрация сигнала флуоресценции проводится прибором автоматически во время амплификации. Оформление протокола и анализ результатов проводится в

соответствии с инструкцией к прибору (см. «Руководство пользователя» для iCycler iQ).

8.4. Регистрация результатов амплификации с использованием электрофореза.

8.4.1. Открыть крышки пробирок с продуктами амплификации и проколоть в парафине отверстие диаметром примерно 2-3 мм с помощью стальной проволоки. После прокалывания каждой пробирки проволоку промыть в емкости с водопроводной водой.

8.4.2. Для приготовления буферного раствора для электрофореза содержимое пакета со смесью для электрофореза перенести в мерную колбу объемом 1,0 л, добавить приблизительно 700 мл дистиллированной воды, перемешать до полного растворения и довести дистиллированной водой до метки.

Примечание. Буферный раствор для электрофореза можно хранить при комнатной температуре (18-25 °C) в течение 1 недели или при температуре 2-8 °C в течение 1 мес.

8.4.3. Заполнить камеру для электрофореза буферным раствором для электрофореза и поместить пластину с агарозным гелем в камеру для электрофореза.

Примечание. Буферный раствор для электрофореза должен покрывать пластину с гелем слоем приблизительно 3-5 мм. При работе с агарозным гелем следует обязательно надевать резиновые перчатки!

8.4.4. Осторожно внести 7,0 мкл продуктов амплификации из каждой амплификационной пробирки в соответствующую лунку агарозного геля под буферный раствор.

8.4.5. Установить крышку камеры для электрофореза и подключить источник постоянного тока. Электрофорез проводить при напряжении 20 вольт/см в течение 10 мин (при ширине камеры 10 см напряжение, устанавливаемое в источнике постоянного тока, должно быть приблизительно равно 200 В).

8.4.6. После окончания электрофореза отключить источник постоянного тока, снять крышку с камеры.

8.4.7. Вынуть пластину с агарозным гелем из камеры для электрофореза, снять гель с пластины, подцепив его с края, и поместить на экран трансиллюминатора.

8.4.8. Надеть защитную маску или установить защитный экран, включить трансиллюминатор и проанализировать полученные результаты. Продукт амплификации виден в ультрафиолетовом свете (длина волны 254 нм или 310 нм) в виде светящейся полосы красно-оранжевого цвета.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Учет результатов амплификации с использованием ПЦР-детектора или детектирующего амплификатора.

9.1.1. Учет результатов реакции осуществляется автоматически с помощью программного обеспечения, поставляемого с ПЦР-детектором или детектирующим амплификатором.

9.1.2. В биологических образцах, содержащих искомый фрагмент генома боррелии бургдорфери, программа фиксирует положительный результат (экспоненциальный рост кривой). Результат амплификации внутреннего контрольного образца в этом случае в учет не принимается.

9.1.3. В биологических образцах, не содержащих искомый фрагмент генома боррелии бургдорфери, в которых получен положительный результат

амплификации внутреннего контрольного образца, программа фиксирует отрицательный результат.

9.1.4. В случае отрицательного результата на наличие искомого фрагмента генома боррелии бургдорфери и отрицательного результата амплификации внутреннего контрольного образца, программа фиксирует результат как недостоверный.

Это может быть вызвано присутствием ингибиторов в препарате ДНК, полученном из биологического материала; неверным выполнением протокола анализа, несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется либо повторная постановка амплификации препарата ДНК, либо повторное выделение ДНК, либо повторное взятие материала.

9.1.5. При использовании ПЦР-детектора программа фиксирует сомнительный результат в случае, если значение для специфики (наличие генома боррелии бургдорфери) попадает в зону неопределенности результатов (результат амплификации внутреннего контрольного образца в учет не принимается). В этом случае необходимо повторить исследование данного образца (см. п.9.1.4).

9.1.6. При получении положительного результата на наличие генома боррелии бургдорфери для отрицательного контрольного образца (К-), результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения контаминации.

9.2. Учет результатов реакции с помощью электрофореза.

9.2.1. В положительных образцах должны быть видны полосы оранжево-красного цвета на уровне полосы положительного контрольного образца, соответствующие фрагменту генома боррелии бургдорфери размером 184 п.н.

Наличие или отсутствие полосы внутреннего контрольного образца размером 560 п.н. в этом случае в учет не принимается.

9.2.2. В отрицательных образцах, в том числе в отрицательном контрольном образце, светящиеся полосы оранжево-красного цвета, соответствующие фрагменту генома боррелии бургдорфери размером 184 п.н., должны отсутствовать, а полоса внутреннего контрольного образца размером 560 п.н. должна быть отчетливо видна.

9.2.3. В случае отсутствия полосы оранжево-красного цвета, соответствующей фрагменту генома боррелии бургдорфери размером 184 п.н. и отсутствия полосы оранжево-красного цвета, соответствующей внутреннему контрольному образцу размером 560 п.н. результат считают недостоверным. В этом случае необходимо повторить исследование данного образца (см.п.9.1.4).

9.2.4. В случае наличия полосы, соответствующей фрагменту генома боррелии бургдорфери размером 184 п.н. в отрицательном контрольном образце, результаты всей постановочной серии бракуют. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения контаминации.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

10.1 Срок годности набора – 6 мес.

10.2. Комплекты реагентов для выделения нуклеиновых кислот, ПЦР-амплификации и детекции ДНК следует хранить в темном месте при температуре 2-8 °С в течение всего срока годности набора.

10.3. После вскрытия упаковки компоненты набора следует хранить при следующих условиях:

- комплекты реагентов для выделения нуклеиновых кислот. ПЦР-амплификации и детекции ДНК следует хранить в тёмном месте при температуре 2-8 °С в течение всего срока годности;

- буферный раствор для электрофореза хранить при комнатной температуре (18-25°С) не более 7 дней или при температуре 2-8 °С не более 1 мес.

По вопросам, касающимся качества набора БОРРЕЛИО-ГЕН, следует обращаться в ЗАО «НПФ ДНК-Технология» по адресу:

115478, Москва, Каширское ш., д. 24, к. 2.

[НЦ Институт иммунологии ФМБА России,

телефон (495) 980 45 55, факс (495) 980 45 55 доб. (111)

Директор по науке

ЗАО «НПФ ДНК-Технология»,

кандидат биологических наук



Д.В. Ребриков

25.11.2007г

Лабораторные испытания проведены набором реагентов БОРРЕЛИО-ГЕН согласно инструкции по применению набора «ПОДТВЕРЖДАЮ»

Начальник отдела 1026 Центра Государственного санитарно-эпидемиологического надзора Приволжско-Уральского военного округа



Рубова

03.08.2007г

