

Стаж

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
Общества с ограниченной
ответственностью «НекстБио»



Е.А. Агафонова
2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению комплекта реагентов
для экстракции ДНК экспресс-методом
«ЭДЭМ»

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ПРИНЦИП МЕТОДА.....	3
ФОРМЫ ВЫПУСКА КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ	3
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	4
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	5
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА....	6
ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА	7
СОСТАВ	8
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	8
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	10
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	11

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект реагентов для экстракции ДНК Экспресс-Методом (ЭДЭМ) предназначен для обработки различных типов клинического материала: соскобного отделяемого и мазков со слизистых оболочек урогенитального тракта, ротоглотки, конъюнктивы глаз, эрозивно-язвенных элементов слизистых и кожи, а также из образцов первой порции мочи¹ человека с целью последующего исследования на наличие ДНК возбудителей ИППП и других инфекций органов репродукции методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с использованием комплектов реагентов производства ООО «НекстБио».

ПРИНЦИП МЕТОДА

Клинический материал, полученный от пациента, помещается в транспортную среду ТС-ЭДЭМ, в которой хранится и транспортируется в лабораторию. Для экстракции ДНК аликвота клинического образца переносится в пробирку с «ВКО-дилуентом», после чего подвергается термической обработке, в процессе которой происходит деструкция клеточных мембран, вирусных оболочек и других биополимерных комплексов и высвобождение ДНК. С помощью последующего центрифугирования нерастворимые компоненты осаждаются на дне пробирки, а супернатант, содержащий ДНК, используется для проведения ПЦР. Находящийся в реактиве «ВКО-дилуент» внутренний контрольный образец (ВКО) проходит процедуру экстракции одновременно с ДНК, содержащейся в клиническом материале, и, таким образом, является маркером качества лабораторного исследования клинического образца.

ФОРМЫ ВЫПУСКА КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ

Комплект реагентов выпускается в 4 формах комплектации:

Форма 1 комплект реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом «ЭДЭМ».

Форма 2 включает комплект реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом «ВКО-дилуент-ЭДЭМ».

Форма 3 включает реагент «Транспортная среда ТС-ЭДЭМ».

Форма 4 включает комплекты реагентов оптом, расфасованные по отдельным реагентам, с маркировкой реагентов на их оптовой фасовке.

Форма комплектации 4 предназначена для производственных целей для последующей маркировки на языке заказчика и комплектации по наборам.

ВНИМАНИЕ! Форма комплектации 4 используется только в соответствии с

¹ Для образцов мочи требуется предварительная обработка.

регламентом, утвержденным производителем.

Форма комплектации 1 предназначена для экстракции ДНК экспресс-методом из образцов клинического материала: соскобного отделяемого и мазков со слизистых оболочек урогенитального тракта, ротоглотки, конъюнктивы глаз, эрозивно-язвенных элементов слизистых и кожи, также из образцов первой порции мочи. Для экстракции ДНК из образцов мочи необходимо использовать дополнительный реагент – транспортную среду «ТС-ЭДЭМ» (50 мл).

Форма комплектации 2 предназначена для экстракции ДНК экспресс-методом из образцов клинического материала: мазков из влагалища, получаемых самостоятельно, соскобного отделяемого и мазков со слизистых оболочек урогенитального тракта, ротоглотки, конъюнктивы глаз, эрозивно-язвенных элементов слизистых и кожи человека, помещенных в транспортную среду «ТС-ЭДЭМ».

Форма комплектации 3 предназначена для транспортировки и хранения отделяемого и мазков со слизистых оболочек урогенитального тракта, ротоглотки, конъюнктивы глаз, эрозивно-язвенных элементов слизистых и кожи, также из образцов первой порции мочи для последующего исследования на возбудителей инфекций методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием комплекта реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом «ЭДЭМ».

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемических 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 всегда следует выполнять следующие требования:

- Следует 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 или реактивы, 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 Выделения, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Неиспользованные реактивы, реактивы с истекшим сроком годности, а также использованные реактивы 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 наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий 0,2 % раствор ДП-2Т.
- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится постановка ПЦР, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.
- Применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции.
- Допускать к работе с набором только специально обученный персонал.
- Не использовать набор по истечении срока годности.
- Использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реактивами. Тщательно вымыть руки по окончании работы.
- Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.
- Листы безопасности материалов (MSDS – material safety data sheet) доступны по запросу.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

1. Бокс биологической безопасности (бокс абактериальной воздушной среды) 2 класса защиты.

2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С.
3. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16000 об/мин.
4. Центрифуга/вортекс.
5. Автоматические дозаторы переменного объема (от 5 до 20, от 20 до 200 мкл).
6. Одноразовые наконечники с фильтром до 100 мкл в штативах.
7. Штативы для микропробирок объемом 1,5 и 2,0 мл.
8. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
9. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
10. Емкость для сброса наконечников.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва, 2008 г), а при использовании комплектов для самостоятельного получения клинического материала – в соответствии с инструкцией к используемому комплекту.

ВНИМАНИЕ! Взятие клинического материала² производится только в пробирки с транспортной средой «ТС-ЭДЭМ», входящие в состав комплекта «СПМ-1» для самостоятельного получения клинического материала (мазка из влагалища) или в состав комплекта реагентов «ЭДЭМ».

Получение соскобного отделяемого и мазков со слизистых оболочек урогенитального тракта, ротоглотки, конъюнктивы глаз, эрозивно-язвенных элементов слизистых и кожи.

1. Открыть пробирки с **ТС-ЭДЭМ**, предварительно стряхнув капли жидкости со стенок и внутренней части крышки на дно пробирки.
2. Погрузить рабочую часть зонда с клиническим материалом в транспортную среду **ТС-ЭДЭМ** и, отломив её в области насечки (если имеется), оставить в пробирке. В случае отсутствия насечки, погрузить рабочую часть зонда в среду, и прижав ее к внутренней стенке пробирки, вращать зонд 5-10 с, после чего зонд удалить. Пробирку плотно закрыть.

Клинический материал, помещенный в транспортную среду ТС-ЭДЭМ в плотно закрытой пробирке можно транспортировать и хранить:

- при комнатной температуре (от +18 до +25 °С) не более 48 ч;
- при температуре от + 2 до +8°С не более 14 сут;

² Для образцов первой порции мочи требуется предварительная обработка

- для более длительного хранения образцы заморозить при температуре минус 20°C и ниже.

Получение первой порции мочи

Получают первую порцию утренней мочи в количестве 15-25 мл в специальный сухой стерильный флакон на 50 мл.

Образцы мочи можно транспортировать и хранить:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °C – в течение 1 суток.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНАЯ ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

(требуется только для мочи)

1. Взболтать флакон с мочой.
2. В пробирку с транспортной средой ТС-ЭДЭМ (0,5 мл) внести **1 мл** мочи, используя для каждого образца отдельный наконечник с фильтром.
3. Центрифугировать пробирки, содержащие ТС-ЭДЭМ и мочу, при **12 тыс об/мин** в течение **5 мин** для получения осадка.
4. Не затрагивая осадок, удалить надосадочную жидкость в колбу-ловушку с помощью вакуумного отсасывателя, используя для каждой пробы отдельный наконечник без фильтра.
5. Добавить в каждую пробирку с осадком мочи **0,5 мл ТС-ЭДЭМ**, используя для каждой пробы отдельный наконечник. Пробирки плотно закрыть, содержимое тщательно перемешать на вортексе, чтобы ресуспендировать осадок, и осадить капли со стенок пробирки и внутренней части крышки кратким центрифугированием при 1,5-3 тыс об/мин в течение 2-3 с.
6. Полученные образцы осадка мочи в транспортной среде ТС-ЭДЭМ использовать для проведения процедуры экстракции ДНК, как описано выше.

Полученные образцы осадка мочи в транспортной среде ТС-ЭДЭМ можно хранить:

- при комнатной температуре (от +18 до +25 °C) не более 48 ч;
- при температуре от + 2 до +8°C не более 14 сут;
- для более длительного хранения образцы заморозить при температуре минус 20°C и ниже.

СОСТАВ

Комплект реагентов «ЭДЭМ» – комплект реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом «ЭДЭМ» **включает:**

Реактив	Описание	Объем, мл	Кол-во
Транспортная среда ТС-ЭДЭМ	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	100 пробирок
ВКО-Дилуент	Прозрачная бесцветная жидкость	0,3	100 пробирок

К комплекту прилагается реагент:

Реактив	Описание	Объем,мл	Кол-во
ПЦР-буфер-Фон	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	2 пробирки

Комплект реагентов рассчитан на экстракции ДНК из 100 образцов соскобного отделяемого и мазков со слизистых оболочек урогенитального тракта, ротоглотки, конъюнктивы глаз, эрозивно-язвенных элементов слизистых и кожи, включая контроли. Для экстракции ДНК из образцов мочи необходимо использовать дополнительный реагент – транспортную среду «ТС-ЭДЭМ» (50 мл).

Комплект реагентов «ВКО-дилуент-ЭДЭМ» – комплект реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом **включает:**

Реактив	Описание	Объем, мл	Кол-во
ВКО-Дилуент	Прозрачная бесцветная жидкость	0,3	100 пробирок

К комплекту прилагается реагент:

Реактив	Описание	Объем, мл	Кол-во
ПЦР-буфер-Фон	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	2 пробирки

Комплект реагентов рассчитан на экстракцию ДНК из 100 образцов, включая контроли.

Транспортная среда ТС-ЭДЭМ:

Реактив	Описание	Объем, мл	Кол-во
Транспортная среда ТС-ЭДЭМ	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	100 пробирок

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

1. Включить термостат и установить температуру 95 °С.
2. Подготовить и расставить в штативе необходимое количество пробирок с реактивом **ВКО-Дилуент** и промаркировать их. Осадить капли раствора со стенок пробирки и внутренней части крышки кратким центрифугированием при

1,5-3 тыс об/мин в течение 2-3 с.

3. Перед проведением процедуры экстракции ДНК перемешать на вортексе содержимое пробирок с клиническим материалом в транспортной среде ТС-ЭДЭМ и осадить капли материала со стенок пробирки и внутренней части крышки центрифугированием при 1,5-3 тыс об/мин в течение 2-3 с. Расставить подготовленные пробирки в штативе.
4. Перенести по **100 мкл** клинического материала в транспортной среде ТС-ЭДЭМ в подготовленные пробирки с **ВКО-Дилуентом**, используя для каждого образца отдельный наконечник с фильтром. В пробирку отрицательного контроля экстракции («В-») внести **100 мкл** транспортной среды **ТС-ЭДЭМ**.
5. Пробирки плотно закрыть, аккуратно, не разбрызгивая, перемешать содержимое на вортексе, и поместить в термостат на **5 мин** при **95 °С**.

ВНИМАНИЕ! Если пробирки неплотно закрыты, то может произойти открывание пробирок во время прогревания.

6. После окончания инкубации поместить пробирки в настольную центрифугу и центрифугировать при **14 тыс об/мин в течение 1 мин**. Полученные таким образом пробы ДНК готовы к проведению последующей ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией.

Пробы ДНК можно хранить в течение 1 нед при температуре от 2 до 8 °С или в течение года при температуре не выше минус 16 °С (при повторном ПЦР-исследовании проб ДНК, содержимое пробирок необходимо перемешать на вортексе и повторить центрифугирование в соответствии с п.6).

ВНИМАНИЕ! При проведении ПЦР-исследования полученных проб ДНК с помощью комплектов реагентов вариант FEP для приготовления пробирки «Фон» следует использовать реагент ПЦР-буфер-Фон, прилагаемый к комплекту реагентов «ЭДЭМ». Пробирку «Фон» подготавливают следующим образом: в пробирку с ПЦР-смесью-1 на прослойку воска внести 10 мкл реагента ПЦР-буфера-Фон, затем внести 10 мкл пробы отрицательного контроля экстракции («В-»), обработанной в соответствии с данной инструкцией.

ВНИМАНИЕ! В случае получения невалидного или сомнительного результата ПЦР-исследования с использованием комплекта реагентов «ЭДЭМ» необходимо повторно провести процедуру экстракции ДНК. Для этого 100 мкл клинического материала в транспортной среде ТС-ЭДЭМ следует обработать с помощью комплекта «ДНК-сорб-АМ» согласно инструкции к этому набору.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 12 мес. Комплект реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

Транспортирование. Комплект реагентов транспортировать при температуре от 2 до 25 °С не более 5 сут.

Хранение. Комплект реагентов хранить при температуре от 2 до 8 °С. Транспортную среду ТС-ЭДЭМ можно хранить не более 14 сут при температуре до 25 С.

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

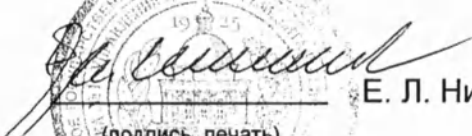
Рекламации на качество комплекта реагентов «ЭДЭМ» направлять на предприятие-изготовитель ООО «НекстБио» (111141 г. Москва, 3-й проезд Перова поля, 8 стр.1) в отдел по работе с рекламациями (тел. (495) 974-96-46, факс (495) 916-18-18, e-mail: info@nextbio.ru).

Старший технолог производства

Главный врач ФГБУ «Поликлиника №1»
Управления делами Президента
Российской Федерации


(подпись)

В. В. Петров


(подпись, печать)

Е. Л. Никонов

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер в каталоге



Осторожно!
Обратитесь к
сопроводительной
документации



Код партии



Максимальное
число тестов



Изделие для in vitro
диагностики



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к
руководству по
эксплуатации



Ограничение
температуры



Не допускать
попадания
солнечного света



Верхнее ограничение
температуры



Дата изготовления



Производитель