

от « » 201 г. №

ЗАО «Вектор-Бест»

«*Project*» 2017 г.



по применению набора реагентов для выделения ДНК из клинических образцов
«РеалБест ДНК-экстракция 2»

Положительный контрольный образец (ПКО) входит в состав ПЦР-наборов серии «РеалБест». ПКО проходит процедуру выделения наравне с биологическими пробами и отрицательным контрольным образцом.

2.2. Состав набора:

- | | |
|---|-------------------------|
| – лизирующий раствор, готовый к применению | – 4 флакона (по 8 мл); |
| – осадитель НК, готовый к применению | – 4 флакона (по 12 мл); |
| – раствор для отмывки № 1, готовый к применению | – 4 флакона (по 13 мл); |
| – раствор для отмывки № 2, готовый к применению | – 4 флакона (по 8 мл); |
| – элюирующий раствор, готовый к применению | – 4 флакона (по 15 мл); |
| – сорбент (суспензия магнитных частиц) | – 2 флакона (по 1 мл); |
| – раствор для восстановления контрольных образцов (РВК), готовый к применению | – 2 флакона (по 4 мл); |
| – отрицательный контрольный образец (ОКО), готовый к применению | – 2 флакона (по 2 мл); |
| – внутренний контрольный образец (ВКО), лиофилизированный | – 4 флакона. |

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Тест на отсутствие ингибирования и эффективность выделения (по ДНК *Chlamydia trachomatis*) – 100 %.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Внимание! Несоблюдение приведённых ниже требований может привести к искажению результатов ПЦР.

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1 (ГОСТ Р 51609-2000).

4.2. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.3. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК и постановки ПЦР согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые перчатки.

4.5. Каждое рабочее место должно быть снабжено собственным набором пипеток переменного объема, необходимыми вспомогательными материалами и оборудованием. Запрещается их перемещение между рабочими местами.

4.6. Для проведения реакции амплификации с детекцией продуктов ПЦР в режиме реального времени необходимо использовать только одноразовые наконечники с фильтром для пипеток.

4.7. Не допускается использование одних и тех же наконечников при добавлении разных образцов.

4.8. После окончания работ для предотвращения контаминации рабочие поверхности ламинарных боксов и лабораторных столов следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,2% раствор ДП-2Т; 3% раствор хлорамина; 1-3% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 0,5-1% раствор «Мистраль»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный бокс 2 класса биологической защиты типа БАВп-01-«Ламинар-с»;
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру 2-8 °С;
- термошейкер (например, TS-100, Biosan, Латвия);
- отсасыватель медицинский (например, В-40 (ВИСМА-ПЛАНАР));
- пипетки полуавтоматические (дозаторы механические) одноканальные с переменным объёмом, со сменными наконечниками (например, фирма Biohit, Финляндия);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (перчатки «NeoTouch», фирма Ansell HealthCare, Германия);
- одноразовые наконечники для пипеток с защитным фильтром /аэрозольным барьером/ (фирма FinnTip, Финляндия);
- одноразовые наконечники для пипеток (например, фирмы FinnTip, Финляндия);
- одноразовые полипропиленовые пробирки на 2 мл (например, фирмы SSI, кат. № 2340, США);
- встряхиватель для пробирок («Bio-Vortex V-1 plus», фирма BioSan, Латвия);
- магнитный штатив для микропробирок (ЗАО «Вектор-Бест», кат. № Е-9291);
- контейнер с дезинфицирующим раствором («Контейнер для сбора острого инструментария – ЕК-01», фирма КМ-Проект, Россия).

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Подготовка сыворотки и плазмы крови

В течение 6 часов после взятия крови следует отобрать плазму или сыворотку в отдельную пробирку.

Транспортировать и хранить образцы при температуре от 2 до 8 °C не более 3 суток; при температуре минус 18-60 °C до 1 месяца.

Образцы сывороток или плазмы крови перед использованием необходимо отцентрифугировать при 13000 об/мин в течение 5 мин при температуре от 18 до 25°C.

Внимание! Не допускается применение для анализа образцов гепаринизированной плазмы.

6.2. Подготовка соскобов эпителиальных клеток

Исследуемый материал (соскоб эпителиальных клеток со слизистой цервикального канала, уретры, влагалища и др.), забранный с помощью одноразовых стерильных зондов, перенести в пробирку с транспортным раствором (производства ЗАО «Вектор-Бест»). Тщательно перемешать, остатки жидкости на зонде отжать о стенку пробирки, зонд извлечь (выбросить в контейнер с дезинфицирующим раствором), пробирку плотно закрыть.

Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок, содержащих соскобы эпителиальных клеток со слизистой цервикального канала, уретры, влагалища.

Транспортировать и хранить образцы при температуре от 18 до 25 °C до 2 суток; при температуре от 2 до 8 °C не более 2 недель; при температуре минус 18-60 °C до 2 месяцев.

6.3. Подготовка мочи

Первую порцию утренней мочи собрать в чистый флакон с плотной крышкой 1,5-2,0 мл мочи отобрать в пробирку, центрифугировать при 3000 об/мин в течение 3 мин. Супернатант удалить практически полностью, не задевая осадок. Полученный образец использовать для выделения ДНК.

Транспортировать и хранить образцы клеточного осадка мочи при температуре минус 20 °C в течение 2 недель, при температуре от 2 до 8 °C не более 1 суток, при температуре от 18 до 25 °C не более 2 часов.

6.4. Подготовка компонентов набора

6.4.1. Перед началом работы необходимо достать набор из холодильника и выдержать при температуре от 18 до 25°C не менее 30 минут.

6.4.2. Достать из набора для ПЦР серии «РеалБест» флакон с положительным контрольным образцом (ПКО).

6.4.3. Отрицательный контрольный образец (ОКО) готов к применению. После вскрытия флакона хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 1 мес.

6.4.4. Перед началом работы прогреть лизирующий раствор при 50-60°С до растворения осадка, перемешать.

6.4.5. Перемешать на вортексе содержимое пробирки с сорбентом до состояния гомогенной суспензии и во флакон с лизирующим раствором добавить 260 мкл суспензии сорбента. Тщательно перемешать.

6.4.6. Во флакон с внутренним контрольным образцом (ВКО) добавить 1,0 мл раствора для восстановления контрольных образцов (РВК), аккуратно перемешать, выдержать 15 мин при температуре (18-25) °С, после чего вновь тщательно перемешать.

6.4.7. Во флакон с лизирующим раствором и сорбентом добавить 750 мкл раствора ВКО. Тщательно перемешать.

7. ОБРАБОТКА КЛИНИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ (ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК)

7.1. Отобрать и подписать необходимое для работы количество пробирок объёмом 2 мл (по количеству исследуемых образцов, включая положительный и отрицательный контроли). Установить их в пластиковый вкладыш от магнитного штатива.

7.2. В пробирку отрицательного контроля выделения внести 100 мкл ОКО.

7.3. В пробирку положительного контроля выделения внести 70 мкл ОКО и 30 мкл положительного контрольного образца (ПКО) (является компонентом набора на ПЦР).

7.4. В остальные пробирки пипеткой с отдельными наконечниками внести по 100 мкл анализируемых образцов в соответствии с маркировкой пробирок.

7.5. В каждую пробирку добавить по 300 мкл лизирующего раствора с сорбентом и ВКО. Перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 сек. Выдержать в термошейкере при 65°С с частотой вращения 1300 об/мин в течение 5 мин. Коротким центрифугированием сбросить капли со стенок пробирок.

7.6. В каждую пробирку с анализируемыми образцами внести по 400 мкл осадителя НК.

7.7. Перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 сек. Центрифугировать при 13000 об/мин при температуре (18-25) °С в течение 5 мин.

7.8. Не взбалтывая осадок, установить пробирки в магнитный штатив. Из каждой пробирки пипеткой (или отсасывателем) с отдельным наконечником отобрать надосадочную жидкость, не задевая осадок.

7.9. В каждую пробирку к осадку добавить 500 мкл раствора для отмывки № 1. Перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 сек. Центрифугировать при 13000 об/мин на микроцентрифуге 2 мин.

7.10. Не взбалтывая осадок, установить пробирки в магнитный штатив. Из каждой пробирки отобрать надосадочную жидкость пипеткой (или отсасывателем) с отдельным наконечником, не задевая осадок.

7.11. В каждую пробирку к осадку добавить по 300 мкл раствора для отмывки № 2. Перемешать содержимое пробирок на вортексе в течение 10-15 сек. Центрифугировать при 13000 об/мин на микроцентрифуге 2 мин.

7.12. Не взбалтывая осадок, установить пробирки в магнитный штатив. Из каждой пробирки отобрать надосадочную жидкость пипеткой (или отсасывателем) с отдельным наконечником, не задевая осадок.

7.13. Высушить осадки в открытых пробирках при температуре (18-25) °С в течение 2-3 мин.

7.14. В каждую пробирку к осадку добавить по 600 мкл элюирующего раствора. Тщательно перемешать на вортексе, ресуспендируя магнитный осадок. Инкубировать в термошейкере с частотой вращения 1300 об/мин при 65°С в течение 5 мин. Центрифугировать на микроцентрифуге при 13000 об/мин 1 мин.

Пробы готовы к постановке ПЦР-анализа.

Внимание! Выделенная ДНК может храниться при температуре от 2 до 8 °С не более 24 часов.

8. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ НАБОРА

8.1. Транспортирование наборов должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование наборов при температуре до 25 °С не более 10 суток. Замораживание наборов не допускается.

8.2. Хранение наборов в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности. Замораживание наборов не допускается.

8.3. Запрещается использовать компоненты из наборов разных серий.

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

9. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, установленных техническими условиями и настоящей инструкцией по применению.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска.

По вопросам, касающимся качества набора «РеалБест ДНК-экстракция 2», следует обращаться в ЗАО «Вектор-Бест» по адресу:

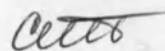
630128, г. Новосибирск-128, а/я 102,

тел. (383) 332-92-49, 227-60-30; тел./факс (383), 332-94-47, 332-94-44.

E-mail: plkobtk@vector-best.ru

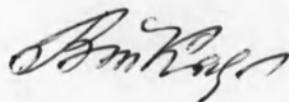
Начальник отделения

ЗАО «Вектор-Бест»

 А.В. Трухина

Директор по производству

ЗАО «Вектор-Бест»

 В.К. Ткачев

«СОГЛАСОВАНО»

зав. кафедрой клинической

лабораторной диагностики

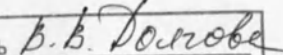
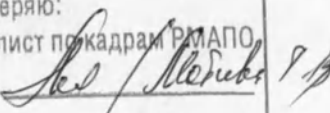
ГБОУ ДПО РМАПО

Минздравсоцразвития России



д.м.н., профессор В.В. Долгов

«15» 12 2014 г.

Подпись	
удостоверяю:	
Специалист по кадрам РМАПО	
Подпись	
" " 20__ года	