

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

АО «Вектор-Бест»

М.Д. Хусаинов

2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для автоматического выделения ДНК
из образцов цельной крови

«РеалБест ГенМаг»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для автоматического выделения ДНК из образцов цельной крови «РеалБест ГенМаг» предназначен для автоматического выделения ДНК человека из образцов цельной крови для последующего генетического анализа методом ПЦР наборами реагентов серии «РеалБест-Генетика».

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода.

Принцип действия набора «РеалБест ГенМаг» состоит в температурной обработке образца многокомпонентным лизирующим раствором, который разрушает комплексы нуклеиновых кислот с белками и обеспечивает условия, при которых нуклеиновые кислоты сорбируются на поверхности магнитных частиц. Затем магнитные частицы проводятся через серию отмывок, в ходе которых нуклеиновые кислоты остаются сорбированными на поверхности магнитных частиц, и элюцию, в ходе которой нуклеиновые кислоты переходят с поверхности частиц в элюирующий раствор. После этого проба готова к постановке ПЦР.

2.2. Состав набора:

Компонент набора <i>Описание.</i>	Количество
Лизирующий раствор <i>Жидкость от бесцветного до жёлтого цвета, допускается наличие осадка, исчезающего при нагревании; содержит гуанидинтиоцианат (57,3 %)</i>	2 флакона по 28 мл
Раствор для отмывки № 1 <i>Жидкость от бесцветного до жёлтого цвета, допускается наличие осадка, исчезающего при нагревании;</i>	2 флакона по 28 мл

Инструкция составлена сотрудниками АО «Вектор-Бест»: директором по производству Ткачевым В.К. и нач. отделения производства ПЦР наборов Трухиной А.В.

<i>содержит гуанидинтиоцианат (57,3 %)</i>	
Раствор для отмывки № 2 <i>Бесцветная жидкость</i>	2 флакона по 110 мл
Элюирующий раствор <i>Бесцветная жидкость, содержит натрия азид (0,05 %)</i>	2 флакона по 15 мл
Сорбент <i>Суспензия магнитных частиц, содержит натрия азид (0,05 %)</i>	2 флакона по 3 мл
Ванночки для реагентов	10 шт.

2.3. Условия применения.

Набор применяется с использованием станции автоматической пробоподготовки «KingFisher Flex» производства «Thermo Fisher Scientific» (Финляндия).

Набор применяется с наборами реагентов серии «РеалБест-Генетика» для определения мутаций и полиморфизмов в генах человека.

Набор рассчитан на выделение нуклеиновых кислот из 96 образцов, включая контрольные образцы. Обеспечивает возможность проведения 2 независимых процедур выделения по 48 образцов в каждой, включая контроли.

3. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Эффективность выделения ДНК человека, определенная по стандартному образцу предприятия СОП 05-2-851, содержащему ДНК маркерных последовательностей аллеля HLA-B*27, составляет 100 %.

3.2. Эффективность выделения ДНК человека, определенная на 217 клинических образцах цельной крови, составила 100 % (интервал 98,3 %-100 %, с доверительной вероятностью 95 %).

3.3. Потенциально интерферирующие вещества.

В процессе выделения ДНК потенциально интерферирующие вещества, находящиеся в цельной крови (гемоглобин, альбумин, билирубин, триглицериды, холестерин) удаляются из раствора, содержащего суммарную ДНК образца, вносимого в реакционную смесь для проведения ПЦР.

В клинических испытаниях показано отсутствие влияния потенциально интерферирующих веществ в образцах крови (гемоглобина до 238 г/л, билирубина до 0,2 мг/мл (350 мкмоль/л), триглицеридов до 30 мг/мл, альбумина до 90 мг/мл) на результаты генетического анализа методом ПЦР наборами реагентов серии «РеалБест-Генетика» при использовании для выделения ДНК набора реагентов «РеалБест ГенМаг».

ЭДТА, используемый в качестве антикоагулянта при подготовке образцов цельной крови, не оказывает влияния на результаты анализа.

Запрещено использование гепарина в качестве антикоагулянта в связи с его возможным ингибирующим влиянием на ПЦР.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Все анализируемые образцы следует рассматривать как потенциально инфекционные. При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

4.3. Сорбент и элюирующий раствор содержат натрия азид; лизирующий раствор и раствор для отмывки №1 содержат гуанидинтиоцианат в концентрациях, указанных в п. 2.2 «Состав набора». При работе с лизирующим раствором и раствором для отмывки №1 следует избегать попадания его компонентов на кожу и слизистые; при попадании немедленно промыть пораженное место большим количеством проточной воды.

4.4. Для предотвращения контаминации необходимо территориально разделять этапы выделения ДНК/РНК и постановки ПЦР/ОТ-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».

4.5. При работе с набором необходимо надевать одноразовые медицинские перчатки, использовать только одноразовые наконечники с фильтром для дозаторов.

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

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

4.8. После окончания работ для дезинфекции и предотвращения контаминации все рабочие поверхности и оборудование следует подвергнуть действию бактерицидных УФ ламп в течение 1 часа. Затем обработать регламентированными санитарными правилами дезинфицирующими средствами (такими, как: 0,8% раствор «Дезомакс-Иннова», 1% раствор «Диабак»; 0,5% раствор «Лизафин»; 1% раствор «Мистраль»; 1% раствор «Велтолен»).

4.9. Все использованные одноразовые материалы подвергать обработке дезинфицирующими средствами с последующей утилизацией (см. МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения»).

4.10. При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10

«Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- ламинарный бокс 2-го класса биологической защиты (например, бокс абактериальной воздушной среды типа БАВп-01, «Ламинар-с», ЗАО «Ламинарные системы»);
- холодильник бытовой, поддерживающий температуру (2–8) °С;
- станция автоматической пробоподготовки KingFisher Flex («Thermo Fisher Scientific», Финляндия);
- планшеты глубоколоночные на 2 мл (например, «Thermo Fisher Scientific», Финляндия, 2 ml);
- насадка на магнитную головку («Thermo Fisher Scientific», Финляндия);
- встряхиватель для пробирок типа «Вортекс» (например, «Bio-Vortex V-1 plus», фирма «BioSan», Латвия);
- дозаторы одноканальные/многоканальные с переменным объемом, со сменными наконечниками (например, фирма «Biohit», Финляндия);
- перчатки медицинские одноразовые нестерильные неопудренные латексные или неопреновые (например, перчатки «NeoTouch», фирма «Ansell HealthCare», Германия);
- одноразовые наконечники для дозаторов с защитным фильтром/аэрозольным барьером (например, фирма «Sartorius», Германия);
- контейнер для дезинфицирующего раствора (например, «Контейнер для сбора острого инструментария – ЕК-01», фирма «КМ-Проект», Россия).

6. ПОДГОТОВКА АНАЛИЗИРУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала осуществляется согласно МУ 1.3. 2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

6.1. Подготовка образцов цельной крови.

Кровь забирается в вакуумную пробирку с ЭДТА. После забора крови её необходимо плавными движениями перемешать с антикоагулянт, находящимся в пробирке.

Транспортировать и хранить образцы при температуре (18-26) °С до 2 часов; при температуре (2-8) °С не более 48 часов; при температуре минус (18-60) °С до 2 недель. Повторное замораживание-оттаивание проб не допускается.

6.2. Подготовка компонентов набора.

6.2.1. Перед началом работы извлечь набор реагентов из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать компоненты набора при температуре (18-26) °С не менее 30 минут.

6.2.2. Извлечь из наборов для ПЦР серии «РеалБест-Генетика» флаконы с элюирующим раствором «Генетика» и пробирки с контрольными образцами (КО), соответствующими данному ПЦР набору, и подготовить их к работе согласно инструкциям.

6.2.3. Флаконы с лизирующим раствором и раствором для отмывки № 1 перед началом работы прогреть при температуре (50–60) °С до растворения осадка, содержимое флаконов перемешать переворачиванием и охладить до температуры (18-26) °С.

Для проведения процедуры выделения из 48 образцов, включая контроли, понадобится 1 флакон с лизирующим раствором и 1 флакон с раствором для отмывки № 1.

6.2.4. Тщательно перемешать на вортексе содержимое флакона с сорбентом до состояния гомогенной суспензии. Во флакон с лизирующим раствором полностью перенести суспензию сорбента. Закрутить крышку, перемешать.

Внимание! Лизирующий раствор после вскрытия и добавления суспензии сорбента использовать в течение 8 часов.

7. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК ИЗ КЛИНИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

7.1. Промаркировать 6 глубоколоночных планшетов: ГР, ЛР, РО1, ЭР – по 1 планшету; РО2 – 2 планшета. Один комплект планшетов предназначен для выделения ДНК одновременно из 96 образцов. При внесении реагентов и образцов ориентировать планшеты следует таким образом, чтобы лунка А1 находилась слева сверху.

7.2. Составить схему размещения контрольных и исследуемых образцов в глубоколоночном планшете на трафарете (Таблица 1). Количество контрольных образцов указано в инструкциях к наборам для ПЦР серии «РеалБест-Генетика».

Таблица 1

Схема размещения контрольных и исследуемых образцов.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	КО1	№7	№26	№43	№66	№95						
B	КО2	№9	№32	№44	№67	№97						
C	№1	№15	№34	№45	№68							
D	№2	№17	№35	№47	№69							
E	№3	№22	№37	№48	№75							
F	№4	№23	№40	№50	№78							
G	№5	№24	№41	№61	№79							
H	№6	№25	№42	№63	№91							

7.3. В глубоколоночный планшет ГР поместить насадку на магнитную головку.

7.4. Внести в соответствующие лунки планшетов растворы в соответствии с таблицей 2. При использовании многоканального дозатора рекомендуется использовать ванночки для реагентов.

Таблица 2.

Набор реагентов «РеалБест ГенМаг», раствор и объём	Маркировка планшета
Лизирующий раствор с сорбентом, 550 мкл	ЛР
Раствор для отмывки № 1, 500 мкл	PO1
Раствор для отмывки № 2, 1000 мкл	PO2
Раствор для отмывки № 2, 1000 мкл	PO2
Элюирующий раствор, 200 мкл	ЭР

7.5. Розлив лизирующего раствора с сорбентом в глубоколоночный планшет ЛР рекомендуется проводить следующим образом:

7.5.1. Перемешать флакон с лизирующим раствором с сорбентом. В лунки глубоколоночного планшета ЛР внести по 550 мкл лизирующего раствора с сорбентом согласно таблице 1.

7.5.2. При заполнении планшета одноканальным дозатором повторять перемешивание флакона с лизирующим раствором через каждые 8 лунок.

7.5.3. При заполнении планшета 8-ми канальным дозатором вылить содержимое флакона с лизирующим раствором в ванночку для реагентов, входящую в состав набора. Немедленно заполнить раствором необходимое количество лунок планшета.

Внимание! Время от момента переноса лизирующего раствора с сорбентом в ванночку до окончания заполнения всех 48 лунок не должно превышать 1 минуту.

7.6. В лунки глубоколоночного планшета ЛР внести по **100 мкл исследуемых образцов** согласно таблице 1. Лунки для контрольных образцов оставить пустыми.

7.7. В лунки глубоколоночного планшета ЭР, маркированные «КО» согласно схеме размещения, внести по **30 мкл КО** из соответствующих наборов для ПЦР серии «РеалБест-Генетика».

7.8. Включить станцию автоматического выделения KingFisher Flex и персональный компьютер, управляющий станцией.

7.9. Запустить на персональном компьютере программное обеспечение «BindIt for KingFisher» и выбрать протокол выделения нуклеиновых кислот «РеалБест ГенМаг».

7.10. По запросу программного обеспечения станции автоматического выделения KingFisher Flex установить глубоколоночные планшеты в прибор: ГР, ЛР, PO1, PO2, PO2, ЭР. После установки планшета ЭР запустится процесс выделения ДНК.

7.11. По окончании протокола выделения ДНК прибор подаст звуковой сигнал.

7.12. После окончания процедуры пробоподготовки извлечь из прибора глубоколоуночный планшет ЭР.

7.13. В лунки глубоколоуночного планшета ЭР добавить по **400 мкл элюирующего раствора «Генетика»** (является компонентом ПЦР-наборов серии «РеалБест-Генетика») согласно схеме размещения образцов. Образцы в глубоколоуночном планшете ЭР готовы к постановке ПЦР-анализа.

Внимание! Выделенную ДНК хранить при температуре (2-8) °С не более 24 часов.

8. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

8.1. Транспортировать изделия следует транспортом всех видов в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида, при температуре (2-8) °С. Допускается транспортирование при температуре до 26 °С не более 10 суток.

8.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно осуществляться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры.

8.3. Срок годности набора – 12 месяцев со дня выпуска. Не допускается применение наборов по истечении срока их годности.

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

8.5. Изделие не требует технического обслуживания и не подлежит ремонту.

9. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

9.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

9.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

9.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

По вопросам, касающимся качества набора «РеалБест ГенМаг», следует обращаться в
АО «Вектор-Бест» по адресу:

630117, г. Новосибирск-117, а/я 492,

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
производства ПЦР-наборов
АО «Вектор-Бест»

А.В. Трухина

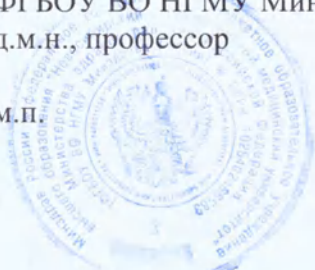
Директор по производству
АО «Вектор-Бест»

В.К. Ткачев

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России
д.м.н., профессор

Т.И. Пospelова

М.П.



Прошнуровано, пронумеровано и
скреплено печатью 8 листов.
Отв. за учет договоров НИР ФГБОУ ВО НГМУ
Минздрава России

Захарова Л.Н.
"22" 01 2021 г.

