

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора

От _____ 200 г. № _____

ИНСТРУКЦИЯ

по применению реагента в пробирках для
выделения ДНК из биопроб
с целью последующего анализа методом полимеразной цепной реакции

(ДНК-ЭКСПРЕСС)

Рекомендована к утверждению экспертной комиссией по наборам реагентов для иммуноферментного (неинфекционные), радиоиммунологического и других видов иммунохимического анализа Комитета по новой медицинской технике Министерства здравоохранения Российской Федерации

(Протокол No 11 от 21 октября 2002 года)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

ДНК-ЭКСПРЕСС предназначен для выделения ДНК из биологического материала (соскобы эпителиальных клеток из цервикального канала, уретры, влагалища, задней стенки гортани; осадок мочи, сперма, отделяемое простаты) для последующего анализа выделенной ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Инструкция составлена: д.б.н. Говоруном В.М.- ведущим научным сотрудником НПФ "ЛИТЕХ" при НИИ физико-химической медицины МЗ РФ.

Медицинский соисполнитель: член - корр. РАМН Сергиенко В.И.- зам. директора НИИ ФХМ МЗ РФ.

ДНК-экспресс предназначен для применения только *in vitro* и рассчитан на выделение ДНК из 100 неизвестных образцов.

2. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

2.1. Потенциальный риск применения – класс 2а.

2.2. Все компоненты комплекта в используемых концентрациях являются нетоксичными.

2.3. Меры предосторожности - соблюдение "Правил 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.).

2.4. При работе с анализируемым биоматериалом следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, т.к. биологический материал человека может являться источником инфекционных или вирусных заболеваний.

3. СОСТАВ КОМПЛЕКТА:

- Реагент - 100 пробирок (по 200 мкл).

4. ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ:

- Твердотельный термостат, поддерживающий температуру +98°C;
- микроцентрифуга, развивающая ускорение 12000 об/мин, для пробирок вместимостью 1,5 мл;
- центрифуга, развивающая ускорение 3000 об/мин;
- микроцентрифуга-встряхиватель для микропробирок (типа "Вортекс");
- пробирки центрифужные вместимостью 15-20 мл;
- пипетки полуавтоматические, со сменяемыми наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 40-200 мкл;
- зонды универсальные стерильные для забора клинического материала;
- перчатки резиновые или пластиковые.

5. ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК из образца

5.1. Подготовка клинического материала.

Соскоб эпителиальных клеток. Исследуемый материал (соскоб эпителиальных клеток со слизистой цервикального канала, уретры, влагалища, задней стенки гортани) с помощью одноразовых стерильных зондов перенести в пробирку с реагентом, перемешать, зонд извлечь (выбросить), пробирку плотно закрыть крышкой.

Осадок мочи. Собранную утром натощак пробу мочи доставить в лабораторию в течение 1-3 ч. Пробу мочи нельзя охлаждать или замораживать (длительному хранению не подлежит). Мочу взболтать, 10-15 мл отобрать в центрифужную пробирку и центрифугировать в течение 15-20 мин при 3000 об/мин, при комнатной температуре (+18-25°C), надосадочную жидкость осторожно слить, стараясь не захватить осадок. 500 мкл суспензии осадка перенести в пробирку вместимостью 1,5 мл, пробирку плотно закрыть крышкой и центрифугировать при 12000 об/мин при комнатной температуре в течение 15 сек. Тщательно удалить надосадочную жидкость. К осадку в пробирке добавить все содержимое реагента из одной пробирки, тщательно перемешать пипетированием и образовавшийся раствор перенести обратно в пробирку с реагентом.

Сперма, отделяемое простаты. 20-50 мкл образца внести в пробирку с реагентом.

Примечание. После забора клинических проб материал для исследования следует помещать непосредственно в пробирки с реагентом. Другие транспортные среды и консерванты могут вызвать ингибирование ПЦР.

Приготовленные таким образом пробы следует использовать в течение 2 ч для выделения ДНК или заморозить и хранить при температуре -20°C не более 2 недель. Незамороженные пробы должны быть доставлены в лабораторию для проведения анализа в термосе со льдом в течение времени не более 2 ч.

5.2. Обработка клинических проб (выделение ДНК).

5.2.1. Пробирки с реагентом, содержащие анализируемый материал, тщательно перемешать на микроцентрифуге-встряхивателе в течение 10 сек, поместить пробирку в твердотельный термостат и инкубировать при температуре $+98^{\circ}\text{C}$ в течение 10 минут.

Примечание: Перед помещением пробирок в термостат необходимо убедиться, что во всех пробирках зацелкнут замочек на крышках.

5.2.2. После завершения инкубации пробирки центрифугировать при 12000 об/мин при комнатной температуре ($+18-25^{\circ}\text{C}$) в течение 15 сек.

5.2.3. Полученный супернатант использовать в качестве исследуемого образца ДНК для постановки реакции амплификации.

Полученный супернатант можно хранить при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ не более одной недели или при температуре -20°C не более 6 мес.

Примечание: Если в отдельных случаях при постановке ПЦР наблюдается ингибирование реакции, что проявляется в подавлении полосы внутреннего контроля, 100 мкл супернатанта (см п. 5.2.3), содержащего выделенную ДНК, необходимо перенести в новую пробирку с реагентом и повторить заново процедуру выделения (п.п. 5.2.1-5.2.3).

6. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

6.1. Комплект ДНК-ЭКСПРЕСС должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ в течение всего срока годности набора. Допускается хранение комплекта при температуре до $+25^{\circ}\text{C}$ не более 5 сут.

6.2. Срок годности комплекта - 6 мес.

6.3. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества комплекта ДНК-ЭКСПРЕСС, следует обращаться в НПФ «Литех» по адресу: 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская 1 стр.3, телефон/факс: (495)246-45-01, или (e.mail) info@lytech.ru

и в Институт стандартизации и контроля лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» ФС НЗСР по адресу: 117246, Москва, Научный проезд, д.14 а, тел: (095)120-60-95; 120-60-96.

Директор ООО НПФ «Литех»



БОРУН Т.Л.