

GenoLyse[®]

VER 1.0

Руководство к пользованию

IFU-51610-14

CE

IVD

только для диагностики in vitro

2017-09-18



Пожалуйста, перед тем как начать работу с набором, внимательно изучите всю инструкцию по применению. Чтобы получить правильные результаты тестирования, строго придерживайтесь установленной процедуры.

Предназначение

Набор **GenoLyse® DNA extraction** позволяет быстро и легко выполнять мануальное выделение бактериальной ДНК для дальнейшего использования с ниже перечисленными диагностическими наборами от Hain Lifescience: **GenoQuick® CT**, **GenoQuick® MTB**, **GenoType CMdirect**, **GenoType MTBC**, **GenoType MTBDRplus**, **GenoType MTBDRsl**, **GenoType Mycobacterium AS**, **GenoType Mycobacterium CM** и **GenoType NTM-DR**.

В зависимости от последовательности теста, в качестве исходного материала можно использовать образец пациента и/или культивированный материал.

Данный набор только для диагностики in vitro и предназначен для использования в медицинских лабораториях.

Принцип тестирования

Весь ход работы подразделяется на три этапа: (i) осаждение клеток для удаления жидкости из образца, (ii) лизис в щелочной среде и при повышенной температуре, и (iii) нейтрализация. Выделенную ДНК можно использовать непосредственно для дальнейшей работы, или можно хранить при -20°C.

Хранение и утилизация компонентов набора

Все компоненты набора хранить при температуре от 2°C до 8°C. После окончания срока годности, реактивы не использовать. Утилизация и уничтожение неиспользованных реагентов должны происходить в строгом соответствии с федеральными, государственными и местными законами.

Меры предосторожности при работе с компонентами набора

Необходимо соблюдать федеральные, государственные и местные законы безопасности труда и охраны окружающей среды. Всегда использовать защитную одежду и перчатки.

Для получения дополнительной информации, пожалуйста, обратитесь к материалам по безопасности работы, которые можно загрузить с сайта: www.hain-lifescience.com/products/msds.html

Требования к образцу

Применимые стартовые материалы для диагностического набора (**GenoQuick® CT**, **GenoQuick® MTB**, **GenoType CMdirect**, **GenoType MTBC**, **GenoType MTBDRplus**, **GenoType MTBDRsl**, **GenoType Mycobacterium AS**, **GenoType Mycobacterium CM** или **GenoType NTM-DR**) перечислены в соответствующих инструкциях.

Придерживайтесь данной инструкции для хранения, транспортировки и подготовки образцов, а так же следуйте специальным предупреждениям при работе.

Меры предосторожности при работе с образцами

Образцы от пациентов и культуры, полученные из образцов пациентов, всегда должны рассматриваться, как потенциально инфекционные, и работать с ними следует соответственным образом (см. [1] или [2]). Всегда использовать защитную одежду и перчатки. Образцы от пациентов из группы риска (инфицированные патогенными микроорганизмами, включая гепатит Б и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ)) и культуры, полученные из этих образцов, всегда должны быть промаркированы, и работать с ними необходимо, соблюдая все меры предосторожности, согласно принятым в данном институте правилам.

Сразу же после использования выбросьте отработанные наконечники пипеток в контейнер для биологически опасных отходов. По окончании исследования, выбросьте все отработанные материалы в контейнер для биологически опасных отходов.

Контроль качества

Соблюдайте обычные меры предосторожности при выделении нуклеиновых кислот. Особенно важно, чтобы все реагенты и материалы, используемые для выделения ДНК и проведения амплификации, не содержали ДНК-аз.

Для выявления случаев возможной контаминации следует использовать включенный в набор отрицательный контроль для каждого образца на этапе экстракции ДНК. Подготовка отрицательных контролей описана в главе Ход работы.

Ход работы

A. Для использования с наборами GenoQuick® MTB, GenoType MTBC, GenoType MTBDRplus, GenoType MTBDRsl, GenoType Mycobacterium CM VER 1.0 или GenoType NTM-DR:

Обработку потенциально инфекционных образцов надо проводить в вытяжном шкафу II класса безопасности. Потенциально инфекционные образцы нужно центрифугировать в безопасном боксе 2-го класса или с применением аэрозоль-непроницаемого ротора. Аэрозоль-непроницаемый ротор можно открывать исключительно в безопасном боксе. Стандартный ротор подойдёт для центрифугирования инактивированных образцов вне безопасного бокса.

Если для выявления возможных случаев контаминации, при выделении ДНК должен быть включён отрицательный контрольный образец, пипетируйте 100 µл Лизирующего Буфера (A-LYS) в 1,5 мл пробирки с прикручивающимися крышками. Для дальнейшей обработки отрицательного контроля, продолжайте ход работы с шага 4.

1. При использовании образцов пациента (только **GenoQuick® MTB**, **GenoType MTBDRplus** и **GenoType MTBDRsl**), перенесите 500 µл деконтаминированного образца в помеченную пробирку на 1,5 мл с прикручивающейся крышкой; при использовании бактериального материала, проросшего на жидкой среде (только **GenoType MTBC**, **GenoType MTBDRplus**, **GenoType MTBDRsl**, **GenoType Mycobacterium CM** VER 1.0 и **GenoType NTM-DR**), перенесите 1 мл.
При использовании бактериального материала, проросшего на плотной среде (только **GenoType MTBC**, **GenoType MTBDRplus**, **GenoType MTBDRsl**, **GenoType Mycobacterium CM** VER 1.0, и **GenoType NTM-DR**), соберите бактерии при помощи инокуляционной петли и суспендируйте в 100 µл Лизирующего Буфера (A-LYS), вортиксите и продолжайте с этапа 4.
2. Центрифугируйте в течение 15 минут при 10 000 x g.
3. Удалите супернатант и ресуспендируйте на вортексе в 100 µл Лизирующего Буфера (A-LYS).
4. Инкубируйте образец в течение 5 минут при 95°C на водяной бане. Быстро осадите.
5. Добавьте 100 µл Нейтрализующего Буфера (A-NB) и вортиксите образец в течение 5 секунд.
6. Осадите в течение 5 минут при максимальной скорости на настольной центрифуге и используйте для ПЦР непосредственно 5 µл супернатанта. В случае, если раствор ДНК подлежит хранению на более продолжительный период, перенесите супернатант в новую пробирку.

Выделенную ДНК можно использовать непосредственно для исследований, или можно хранить при -20°C.

B. Для работы с набором GenoQuick® CT:

Если для выявления возможных случаев контаминации, при выделении ДНК должен быть включён отрицательный контрольный образец, пипетируйте 100 µл Лизирующего Буфера (A-LYS) 1,5 мл пробирки с прикручивающимися крышками. Для дальнейшей обработки отрицательного контроля, продолжайте ход работы с шага 4.

1. При использовании мазков с транспортной средой, смойте мазок в транспортную среду при вортиксировании в течение 10 секунд. Отожмите остатки жидкости о внутреннюю стенку пробирки. Удалите мазок.
При использовании сухих мазков, смойте мазок в 0,5-1 мл 0,9% раствора NaCl при вортиксировании в течение 10 секунд. Отожмите остатки жидкости о внутреннюю стенку пробирки. Удалите мазок.
2. Перенесите 500 µл материала образца из шага 1 или 500 µл первой порции мочи в помеченную пробирку на 1,5 мл с прикручивающейся крышкой. Центрифугируйте в течение 15 минут при 10 000 x g в стандартной настольной центрифуге.
3. Удалите супернатант и на вортексе ресуспендируйте осадок в 100 µл Лизирующего Буфера (A-LYS).
4. Инкубируйте образец в течение 5 минут при 95°C на водяной бане. Быстро осадите.
5. Добавьте 100 µл Нейтрализующего Буфера (A-NB) и вортиксите образец в течение 5 секунд.
6. Для ПЦР используйте непосредственно 5 µл раствора ДНК. В случае, если предполагается длительное хранение раствора ДНК, осадите в течение 5 минут на максимальной скорости и перенесите супернатант в новую пробирку.

Выделенную ДНК можно использовать непосредственно для исследований, или можно хранить при -20°C.

C. Для работы с набором GenoType CMdirect, GenoType Mycobacterium AS или GenoType Mycobacterium CM VER 2.0:

Обработку потенциально инфекционных образцов надо проводить в вытяжном шкафу II класса безопасности. Потенциально инфекционные образцы нужно центрифугировать в безопасном боксе 2-го класса или с применением аэрозоль-непроницаемого ротора. Аэрозоль-непроницаемый ротор можно открывать исключительно в безопасном боксе. Стандартный ротор подойдёт для центрифугирования инактивированных образцов вне безопасного бокса.

Определите количество образцов (количество анализируемых проб + отрицательный контрольный образец). Подготовьте смесь A-LYS/IC состоящую из 100 µл Лизирующего Буфера (A-LYS) и 2 µл Внутреннего Контроля ДНК (IC GT CMdirect для работы с набором **GenoType CMdirect**, IC GT Mycobacterium AS для работы с набором **GenoType Mycobacterium AS** или IC GT Mycobacterium CM VER 2.0 для работы с набором **GenoType Mycobacterium CM** VER 2.0; включён в соответствующий набор **GenoType kit**) из расчёта на каждый образец. Тщательно перемешайте смесь A-LYS/IC (можно на вортексе).

Если для выявления возможных случаев контаминации, при выделении ДНК должен быть включён отрицательный контрольный образец, пипетируйте 100 µл смеси A-LYS/IC в 1,5 мл пробирки с прикручивающимися крышками. Для дальнейшей обработки отрицательного контроля, продолжайте ход работы с шага 4.

1. При использовании образцов пациента (только **GenoType CMdirect**), перенесите 500 µл деконтаминированного образца в помеченную пробирку на 1,5 мл с прикручивающейся крышкой; при использовании бактериального материала, проросшего на жидкой среде (только **GenoType Mycobacterium AS** и **GenoType Mycobacterium CM** VER 2.0), перенесите 1 мл.
При работе с бактериями, выросшими на плотной среде (только **GenoType Mycobacterium AS** и **GenoType Mycobacterium CM** VER 2.0), соберите бактерии при помощи инокуляционной петли и суспендируйте в 100 µл смеси A-LYS/IC, вортиксите и продолжайте с этапа 4.
2. Центрифугируйте в течение 15 минут при 10 000 x g.
3. Удалите супернатант и ресуспендируйте на вортексе в 100 µл смеси A-LYS/IC.
4. Инкубируйте образец в течение 5 минут при 95°C на водяной бане. Быстро осадите.
5. Добавьте 100 µл Нейтрализующего Буфера (A-NB) и вортиксите образец в течение 5 секунд.
6. Используя настольную центрифугу, осадите на максимальной скорости 5 мин, и отобрать 5 мкл супернатанта для ПЦР. Если предполагается более длительное хранение раствора ДНК, то супернатант необходимо перенести в новую пробирку.

Выделенную ДНК можно использовать непосредственно для исследований, или можно хранить при -20°C.

Ограничения метода

Чтобы получить правильные результаты и избежать контаминации, строго придерживайтесь установленного протокола и процедуры тестирования. Этот тест может проводиться только обученным и подготовленным высококвалифицированным персоналом, который знаком с молекулярно-биологическими методами.

Оценка эффективности набора **GenoLyse**[®] проводилась только с использованием совместимого набора от Hain Lifescience, и в условиях, указанных в соответствующей инструкции для пользователя. Исходные материалы, включённые в соответствующие инструкции по применению были протестированы. До появления данной редакции рабочей инструкции, описание метода выделения не было валидировано на других наборах или с другими материалами в качестве образца. Технические характеристики можно запросить по ссылке: www.hain-lifescience.com

Результаты, полученные для ДНК, выделенной при помощи этого набора, можно интерпретировать только в сочетании с дополнительными лабораторными исследованиями и клинической картиной, полученной от ответственного врача. Данный набор не оценивался для выделения ДНК из образцов стула или крови, а так же для мазков, содержащих ингибиторы ПЦР (например, спирты, СДС). Так же этот набор не был валидирован ни для выделения из грибов, паразитов или вирусов, ни для выделения РНК.

Решение проблем

Проблемы при последующих применениях (например, проблемы при амплификации)

- Раствор ДНК содержит ингибиторы. Убедитесь в качестве исходного материала.
- Раствор ДНК содержит белковые примеси. Добавьте или увеличьте этап центрифугирования лизата нейтрализованных клеток, и перенесите супернатант в новую пробирку.
- Неправильное взятие образца, его хранение и транспортировка, или неправильная подготовка образца. Запросите новый образец и повторите выделение.
- Контаминация реагентов для выделения. При последующем применении, ДНК так же выявляется в отрицательном контроле, включённом в выделение ДНК (см. Главу Контроль качества). Повторите выделение с новыми реагентами.

Необходимые, но не поставляемые материалы

- 0,9% раствор хлорида натрия (для протокола **B**)
- Микропипетки на 20, 200 и 1000 мкл
- Вытяжной шкаф 2-го класса безопасности (для протоколов **A** и **C**)
- Одноразовые перчатки
- Одноразовые стерильные наконечники с фильтром
- Таймер
- Настольная центрифуга (желательно с аэрозольной защитой)
- Вортекс
- Водяная баня, точность $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- 1,5 мл пробирки с прикручивающимися крышками

Состав набора

Номер для заказа	51612	51610
Количество выделений	12	96
Лизирующий Буфер (A-LYS) содержит неионогенное активное вещество <1%, <0,2% NaOH, краситель 1,2 мл		9,6 мл
Нейтрализующий Буфер (A-NB) содержит буфер	1,2 мл	9,6 мл
Руководство к пользованию	1	1

Информация для заказа

	Номер для заказа
GenoLyse [®] (набор для ручного выделения ДНК, рассчитанный на 12 образцов)	51612
GenoLyse [®] (набор для ручного выделения ДНК, рассчитанный на 96 образцов)	51610

Список литературы

1. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th edition. U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA 2009.
2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards), USA, Document M29 (please refer to the latest version).

Важные изменения в инструкции IFU-51610-14

Глава	Изменения
Предназначение, Ход работы	Набор GenoLyse [®] был утверждён для использования вместе с наборами GenoType CMdirect .

HAIN

LIFESCIENCE

51610-14-08

CE

IVD



Hain Lifescience GmbH

Hardwiesenstraße 1, 72147 Nehren, Germany
www.hain-lifescience.de, +49 (0) 74 73- 94 51- 0