

**Первичная специализированная аккредитация
специалистов здравоохранения**

Паспорт экзаменационной станции

**Молекулярно-генетическая экспертиза:
получение препаратов ДНК из следов
биологического происхождения (кровь, слюна) на
объектах молекулярно-генетической экспертизы с
использованием метода органической экстракции
(фенольного метода)**

**Должность:
*Судебный эксперт (эксперт-генетик)***

Оглавление

1. Профессиональный стандарт (трудовые функции)	4
2. Продолжительность работы станции	4
3. Задача станции.....	4
4. Информация по обеспечению работы станции	4
4.1. Рабочее место члена АПК.....	4
4.2. Рабочее место аккредитуемого	5
4.2.1. Перечень мебели и прочего оборудования	5
4.2.2. Перечень медицинского оборудования	5
4.2.3. Расходные материалы	6
5. Перечень ситуаций (сценариев) станции.....	6
6. Информация (брифинг) для аккредитуемого	7
7. Действия членов АПК, вспомогательного персонала на подготовительном этапе (перед началом работы на станции).....	7
8. Действия членов АПК, вспомогательного персонала в процессе работы станции	7
9. Нормативно-методическое обеспечение паспорта станции	10
10. Справочная информация для аккредитуемого/членов АПК (Приложение 1).....	10
11. Критерии оценивания действий аккредитуемого.....	10
12. Алгоритм выполнения навыка	10
13. Оценочный лист.....	12
14. Форма заключения для самостоятельного заполнения аккредитуемым лицом	13
15. Сведения о разработчиках паспорта	14
Приложение 1.....	15
Приложение 2.....	16

Общие положения. Паспорта станций (далее станции) объективного структурированного клинического экзамена (ОСКЭ) для второго этапа первичной аккредитации и первичной специализированной аккредитации специалистов представляют собой документ, включающий необходимую информацию по оснащению станции, брифинг (краткое задание перед входом на станцию), сценарии, оценочные листы (далее чек-лист), источники информации, справочный материал и т.д., и предназначены в качестве методического и справочного материала для оценки владения аккредитуемым лицом конкретным практическим навыком (умением), и могут быть использованы для оценки уровня готовности специалистов здравоохранения к профессиональной деятельности.

Оценивание особенностей практических навыков по конкретной специальности может быть реализовано через выбор конкретных сценариев. Данное решение принимает аккредитационная подкомиссия по специальности (далее АПК) в день проведения второго этапа аккредитации специалистов.

С целью обеспечения стандартизации процедуры оценки практических навыков условие задания и чек-лист являются едиными для всех.

Целесообразно заранее объявить аккредитуемым о необходимости приходить на второй этап аккредитации в спецодежде (медицинская одежда, сменная обувь, шапочка), иметь индивидуальные средства защиты.

1. Профессиональный стандарт (трудовые функции)

Профессиональный стандарт по специальности «Судебный эксперт (эксперт-генетик)» на стадии разработки.

Проверяемая профессиональная компетенция: получение препаратов ДНК из следов биологического происхождения для дальнейшего молекулярно-генетического экспертного исследования.

2. Продолжительность работы станции

Общее время выполнения навыка – 10 минут.

Время нахождения аккредитуемого лица на станции – не менее 8,5 минут (в случае досрочного выполнения практического навыка аккредитуемый остается внутри станции до голосовой команды «Перейдите на следующую станцию»).

Таблица 1

Тайминг выполнения практического навыка

Время озвучивания команды	Голосовая команда	Действие аккредитуемого лица	Время выполнения навыка
0'	Ознакомьтесь с заданием станции	Ознакомление с заданием (брифингом)	0,5'
0,5'	Войдите на станцию и озвучьте свой логин	Начало работы на станции	8,5'
8,0'	У Вас осталась одна минута	Продолжение работы на станции	
9,0'	Перейдите на следующую станцию	Покидает станцию и переходит на следующую станцию согласно индивидуальному маршруту	1'

3. Задача станции

Демонстрация аккредитуемым лицом алгоритма выделения ДНК в(на) объектах молекулярно-генетической экспертизы с помощью метода органической экстракции (фенольного метода).

Примечание: обработка и пробоподготовка реального биоматериала не проводится.

4. Информация по обеспечению работы станции

Для организации работы станции должны быть предусмотрены:

4.1. Рабочее место члена АПК

Таблица 2

Рабочее место члена АПК

№ п/п	Перечень оборудования	Количество
1	Стол рабочий (рабочая поверхность)	1 шт.
2	Стул	2 шт.
3	Компьютер с выходом в Интернет для доступа к автоматизированной системе аккредитации специалистов здравоохранения	1 шт.

4	Устройство для трансляции видео - и аудиозаписей ¹ с места работы аккредитуемого лица с возможностью давать вводные, предусмотренные паспортом станции	1 шт.
5	Чек-листы в бумажном виде (на случай возникновения технических неполадок, при работе в штатном режиме не применяются)	По количеству аккредитуемых лиц
6	Шариковая ручка	2 шт.

4.2. Рабочее место аккредитуемого

Станция должна имитировать рабочее помещение и включать оборудование (оснащение) и расходные материалы (из расчета на попытки аккредитуемых лиц):

4.2.1. Перечень мебели и прочего оборудования

Таблица 3

Перечень мебели и прочего оборудования

№ п/п	Перечень мебели и прочего оборудования	Количество
1	Стол рабочий (рабочая поверхность)	1 шт.
2	Стул	1 шт.
3	Объект (вещественное доказательство) с предполагаемыми следами биологического происхождения: кровь, слюна (имитация)	2 шт.
4	Контрольный объект без следов биологического происхождения	2 шт.
5	Отрицательный контрольный объект (имитация)	2 шт.
6	Таймер	1 шт.
7	Маркер для надписей на пластиковой поверхности	1 шт.
8	Устройство для цифровой фотофиксации	1 шт.

4.2.2. Перечень медицинского оборудования

Таблица 4

Перечень медицинского оборудования

№ п/п	Перечень медицинского оборудования	Количество
1	Штатив для пробирок	1 шт.
2	Штатив для дозаторов	1 шт.
3	Дозатор объемом 1 мл	1 шт.
4	Дозатор объемом 100 мкл	1 шт.
5	Ножницы	3 шт.
6	Пинцет	3 шт.
7	Вихревой смеситель	1 шт.

¹ По согласованию с председателем АПК устройство с трансляцией видеозаписи работы аккредитуемого может находиться в другом месте, к которому члены АПК должны иметь беспрепятственный доступ, чтобы иметь возможность пересмотреть видеозапись.

8	Центрифуга	1 шт.
9	Термостат	1 шт.
10	Холодильник от +4 ⁰ С до -20 ⁰ С	1 шт.
11	Контейнер для сбора отходов класса Б	1 шт.

4.2.3. Расходные материалы

Таблица 5

Расходные материалы (в расчете на 1 попытку аккредитуемого лица)

№ п/п	Перечень расходных материалов	Количество (на 1 попытку аккредитуемого лица)
1	Нестерильные перчатки разных размеров	1 пара
2	Одноразовый халат	1 шт.
3	Маска медицинская	1 шт.
4	Шапочка медицинская одноразовая	1 шт.
5	Дезинфицирующий раствор	1 фл.
6	Наконечники для дозаторов объемом 1 мл	8 шт.
7	Наконечники для дозаторов объемом 100 мкл	6 шт.
8	Пластиковая пробирка объемом 1,5-2 мл	1 уп.
9	Салфетки марлевые медицинские нестерильные	1 уп.
10	Одноразовая простыня	1 шт.
11	Раствор 1 (лизирующий буфер+протеиназа К) 400 мкл, имитация	1 фл.
12	Раствор 2 (фенол-хлороформ) 400 мкл, имитация	1 фл.
13	Раствор 3 (хлороформ) 400 мкл, имитация	1 фл.
14	Раствор 4 (ацетат аммония 5М) 80 мкл, имитация	1 фл.
15	Раствор 5 (этанол 96%) 1,44 мл, имитация	1 фл.
16	Раствор 6 (этанол 75%) 200 мкл, имитация	1 фл.
17	Раствор 7 (ТЕ – буфер) 100 мкл, имитация	1 фл.
18	Бланк лабораторного заключения	1 шт.

5. Перечень ситуаций (сценариев) станции

Таблица 6

Перечень ситуаций (сценариев) станции

№ п.п.	Ситуация (сценарий)
1.	Выделение ДНК из биологических следов (кровь) на объектах молекулярно-генетической экспертизы с использованием метода органической экстракции (фенольного метода)
2.	Выделение ДНК из биологических следов (слюна) на объектах молекулярно-генетической экспертизы с использованием метода органической экстракции (фенольного метода)

Выбор и последовательность ситуаций определяет АПК в день проведения второго этапа первичной специализированной аккредитации специалистов здравоохранения.

6. Информация (брифинг) для аккредитуемого

Вы – судебный эксперт-генетик по специальности «Судебный эксперт (эксперт-генетик)». Задача - провести процедуру по экстрагированию ДНК из биологических следов (крови или слюны) на объектах с использованием фенольного метода: подготовить объекты, выполнить необходимый ряд последовательных действий, получить препарат с выделенной ДНК, проанализировать результат и дать предварительное заключение.

7. Действия членов АПК, вспомогательного персонала² на подготовительном этапе (перед началом работы на станции)

1. Проверка соответствия оформления и комплектования станции ОСКЭ типовому паспорту с учётом количества аккредитуемых лиц.
2. Проверка наличия на станции необходимых расходных материалов.
3. Проверка наличия письменного задания (брифинга) перед входом на станцию.
4. Проверка готовности симулятора к работе.
5. Установка нужного сценария с помощью программного управления симулятором
6. Проверка готовности трансляции видеозаписей в комнату видеонаблюдения (при наличии таковой).
7. Получение логина и пароля для входа в автоматизированную систему аккредитации специалистов здравоохранения и вход в нее. Сверка своих персональных данных.
8. Выбор ситуации согласно решению АПК.
9. Выполнение иных мероприятий, необходимых для нормальной работы станции.

8. Действия членов АПК, вспомогательного персонала в процессе работы станции

1. Включение видеокамеры при команде «Ознакомьтесь с заданием станции» (при необходимости).
2. Контроль качества аудиовидеозаписи действий аккредитуемого (при необходимости).
3. Запуск симулятора и управление программным обеспечением тренажера.
4. Внесение индивидуального номера из логина, полученного перед прохождением первого этапа процедуры аккредитации в чек-лист в автоматизированной системе аккредитации специалистов здравоохранения.
5. Проведение регистрации последовательности и правильности действий/расхождения действий аккредитуемого в соответствии с параметрами в чек-листе.
6. Фиксация результатов параметров тренажера в чек-листе (если предусмотрено в чек-листе).

² Для удобства и объективности оценки выполнения практического навыка целесообразно помимо члена АПК привлечение еще одного специалиста (из числа членов АПК или вспомогательного персонала).

Член АПК визуально наблюдает за действиями аккредитуемого, управляет камерами и заполняет чек-лист; второй член АПК/вспомогательный персонал также визуально наблюдает за действиями аккредитуемого, дает ему обратную связь и управляет симуляторами/тренажерами.

7. Ведение минимально необходимого диалога с аккредитуемым от лица пациента и обеспечение дополнительными вводными для выполнения ситуации (сценария) (таблица 7) (если предусмотрено сценарием станции).

8. Соблюдение правил: не говорить ничего от себя, не вступать в переговоры, даже если Вы не согласны с мнением аккредитуемого. Не задавать уточняющих вопросов, не высказывать никаких требований.

9. После команды аккредитуемому «Перейдите на следующую станцию» приведение используемого симуляционного оборудования и помещения в первоначальный вид.

Для членов АПК с небольшим опытом работы на станции допускается увеличение промежутка времени для подготовки станции и заполнения чек – листа. Промежуток времени в таком случае должен быть равен периоду работы станции (10 минут).

Таблица 7

Примерные тексты вводной информации в рамках диалога члена АПК и аккредитуемого

№ п/п	Действие аккредитуемого лица	Текст вводной	
		Сценарий 1	Сценарий 2
1.	При входе на станцию	«Вам необходимо провести выделение ДНК из объекта молекулярно-генетической экспертизы – марли с сухой кровью с использованием метода органической экстракции (фенольного метода)»	«Вам необходимо провести выделение ДНК из объекта молекулярно-генетической экспертизы – аппликатора с буккальным эпителием с использованием метода органической экстракции (фенольного метода)»
2.	При уточнении вида необходимого процесса (выделение ДНК) и конкретного метода выделения ДНК (фенольный метод)	«Выделение ДНК из сухой крови проводится в реальном времени. Процесс включает ряд последовательных манипуляций, приводящий к получению конечного продукта-выделенной ДНК. Выделение проводится с использованием определенной реагентики, неоднократным перемешиванием, центрифугированием, инкубацией, отбором фракций и т.п. манипуляций. Получение	«Выделение ДНК из буккального эпителия проводится в реальном времени. Процесс включает ряд последовательных манипуляций, приводящий к получению конечного продукта-выделенной ДНК. Выделение проводится с использованием определенной реагентики, неоднократным перемешиванием, центрифугированием, инкубацией, отбором фракций и т.п. манипуляций. Получение конечного продукта с помещением выделенной

		конечного продукта с помещением выделенной ДНК в холодильник на - 20°C»	ДНК в холодильник на - 20°C»
3.	При попытке обработать рабочие поверхности салфеткой/детергентом	«Будем считать, что поверхности обработаны»	
4.	При завершении задания по предварительной подготовке объекта и постановке в термостат для инкубации	«Будем считать, что объект и Кв вырезаны, помещены в пробирки, добавлен Раствор 1. Прошло 60 минут, инкубация и кратковременное центрифугирование завершены, доступно проведение дальнейших манипуляций»	
5.	При завершении добавления в пробирку Раствора 2, перемешивания и постановки в центрифугу	«Будем считать, что прошло 5 минут, центрифугирование завершено, доступна следующая манипуляция»	
6.	При завершении добавления в пробирку Раствора 3, перемешивания и постановки в центрифугу	«Будем считать, что прошло 5 минут, центрифугирование завершено, доступна следующая манипуляция»	
7.	При завершении добавления в пробирку Раствора 5, перемешивания, инкубации в термостате и последующем центрифугировании	«Будем считать, что 60 минут прошло, инкубация завершена. Будем считать, что 15 минут прошло, центрифугирование завершено, доступно проведение дальнейших манипуляций»	
8.	При завершении добавления в пробирку Раствора 6, перемешивания и постановки в центрифугу	«Будем считать, что 1 минута прошла, центрифугирование завершено, доступна следующая манипуляция»	
9.	При завершении удаления из пробирки супернатанта	«Будем считать, что подсушивание осадка при комнатной температуре завершено, доступна следующая манипуляция»	
10.	При попытке поместить выделенную ДНК в холодильник на -20°C	«Будем считать, что выделенная ДНК помещена в холодильник на -20°C»	

9. Нормативно-методическое обеспечение паспорта станции

1. Приказ Минздрава России от 02.06.2016 N 334н «Об утверждении Положения об аккредитации специалистов».
2. Приказ Минздрава России от 20.01.2020 N 34н «Об внесении изменений в Положение об аккредитации специалистов, утвержденного приказом Минздрава России от 02.06.2016 N 334н».
3. Использование индивидуализирующих систем на основе ПДАФ ДНК в судебно-медицинской экспертизе идентификации личности и установления родства/ Методические указания/ П.Л. Иванов, 1999.
4. Руководство по судебной медицине/ Под редакцией В.В. Томилина, Г.А. Нашина, 2001.
5. Индивидуализация человека и идентификация личности: молекулярная биология в судебной экспертизе /Вестник Российской Академии наук, П.Л. Иванов, 2003.

10. Справочная информация для аккредитуемого/членов АПК (Приложение 1)

11. Критерии оценивания действий аккредитуемого

В электронном чек-листе оценка правильности и последовательности выполнения действий аккредитуемым осуществляется с помощью активации кнопок:

- «Да» – действие произведено;
- «Нет» – действие не произведено.

Каждая позиция вносится членом АПК в электронный чек-лист.

12. Алгоритм выполнения навыка

Алгоритм выполнения практического навыка может быть использован для освоения данного навыка и подготовки к первичной аккредитации или первичной специализированной аккредитации специалистов здравоохранения.

№ п/п	Действие аккредитуемого лица
1.	Уточнить вид и метод процесса
2.	Убедиться в наличии необходимых материалов для его проведения
3.	Использовать спецодежду для работы в лаборатории (надеть одноразовый халат, нестерильные перчатки, маску, шапочку)
4.	Обработать рабочее место детергентом
5.	Подготовить оборудование к проведению выделения (одноразовая простыня, штативы с наконечниками и пробирками, ножницы, пинцет, набор реагентов, дозаторы)
6.	Поместить объекты (исследуемый и контрольный) на рабочее место и визуально определить место вырезки
7.	Промаркировать пробирки: «Образец», «Кv» и поместить в штатив
8.	Сделать вырез из объекта (~ 1 см ³), поместить в пробирку с надписью «Образец».
9.	Сделать вырез из контрольного объекта, поместить в пробирку с надписью «Кv»
10.	Проверить срок годности используемых реагентов

11.	Дозатором внести в пробирки по 200 мкл Раствора 1 (лизирующий буфер+протеиназа К)
12.	Сбросить наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б
13.	Кратковременно встряхнуть пробирки на вихревом смесителе
14.	Пробирки поставить в термостат на инкубацию при 55°C в течение 60 минут
15.	После инкубации центрифугировать пробирки 30 секунд при 12000 об/мин.
16.	Дозатором внести в каждую пробирку по 200 мкл Раствора 2 (фенол-хлороформ)
17.	Сбросить наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б
18.	Перемешать содержимое пробирки на вихревом смесителе в течение 10 секунд
19.	Поместить пробирки в центрифугу и центрифугировать пробирки в течение 5 минут при 10000 об/мин.
20.	Достать пробирки из ротатора и поставить в штатив
21.	Отобрать дозатором надосадочную жидкость из каждой пробирки и внести жидкость в новую пробирку с соответствующей надписью
22.	Сбросить наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б
23.	Добавить в каждую пробирку по 200 мкл Раствора 3 (хлороформ)
24.	Кратковременно перемешать содержимое пробирок на вихревом смесителе
25.	Центрифугировать в течение 5 минут при 10000 об/мин.
26.	Достать пробирки из центрифуги и поставить в штатив
27.	Отобрать дозатором надосадочную жидкость (200 мкл) из каждой пробирки и внести в новую пробирку с соответствующей надписью
28.	Добавить в каждую пробирку по 40 мкл Раствора 4 (ацетат аммония 5М)
29.	Сбросить наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б
30.	Добавить в каждую пробирку по 720 мкл Раствора 5 (этанол 96%)
31.	Сбросить наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б
32.	Перемешать содержимое пробирок на вихревом смесителе в течение 5 секунд
33.	Пробирки поставить на инкубацию при – 20°C в течение 60 минут
34.	После инкубации центрифугировать пробирки 15 минут при 12000 об/мин.
35.	Дозатором удалить супернатант из каждой пробирки
36.	Сбросить наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б
37.	Внести в каждую пробирку по 100 мкл Раствора 6 (этанол 75%)
38.	Сбросить наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б
39.	Центрифугировать пробирки в течение 1 минуты при 12000 об/мин.
40.	Дозатором удалить супернатант из каждой пробирки
41.	Сбросить наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б
42.	Осадок подсушить при комнатной температуре до полного высыхания
43.	Дозатором внести в каждую пробирку по 50 мкл Раствора 7 (ТЕ – буфер)
44.	Сбросить наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б
45.	Поставить пробирки с выделенной ДНК в холодильник на -20°C
46.	Записать в бланк лабораторного заключения полученный результат

13. Оценочный лист

Используется для оценки действий аккредитуемого лица при прохождении станции.

№ п/п	Действие аккредитуемого лица	Критерии оценки
1.	Уточнил вид и метод процесса и убедился в наличии необходимых материалов для его проведения	√ да ☐ нет
2.	Использовал спецодежду для работы в лаборатории (надел одноразовый халат, нестерильные перчатки, маску, шапочку)	√ да ☐ нет
3.	Обработал рабочее место детергентом	√ да ☐ нет
4.	Подготовил оборудование к проведению тестирования (одноразовая простыня, штативы с наконечниками и пробирками, ножницы, пинцет)	√ да ☐ нет
5.	Поместил объекты (исследуемый и контрольный) на рабочее место, визуально определил место вырезки. Промаркировал пробирки: «Образец», «Kv», поместил в штатив, открыл крышки	√ да ☐ нет
6.	Сделал вырез из объекта (~ 1 см ³), поместил в пробирку с надписью «Образец», закрыл крышку. Сделал вырез из контрольного объекта, поместил в пробирку с надписью «Kv», закрыл крышку	√ да ☐ нет
7.	Проверил срок годности используемых реагентов	√ да ☐ нет
8.	Дозатором внес в пробирки по 200 мкл Раствора 1. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	√ да ☐ нет
9.	Кратковременно встряхнул пробирки на вихревом смесителе	√ да ☐ нет
10.	Пробирки поставил в термостат на инкубацию при 55°C в течение 60 минут	√ да ☐ нет
11.	После инкубации центрифугировал пробирки 30 секунд при 12000 об/мин.	√ да ☐ нет
12.	Дозатором внес в каждую пробирку по 200 мкл Раствора 2. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	√ да ☐ нет
13.	Перемешал содержимое пробирки на вихревом смесителе 10 секунд	√ да ☐ нет
14.	Поместил пробирки в центрифугу и центрифугировал в течение 5 минут 10000 об/мин.	√ да ☐ нет
15.	Достал пробирки из ротатора, поставил в штатив, открыл крышки пробирок	√ да ☐ нет
16.	Отобрал дозатором надосадочную жидкость и внес в новую пробирку с соответствующей надписью. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	√ да ☐ нет
17.	Добавил в каждую пробирку по 200 мкл Раствора 3	√ да ☐ нет
18.	Кратковременно перемешал содержимое пробирок на вихревом смесителе	√ да ☐ нет
19.	Центрифугировал в течение 5 минут при 10000 об/мин.	√ да ☐ нет
20.	Достал пробирки из центрифуги, поставил в штатив, отобрал дозатором надосадочную жидкость (200 мкл)	√ да ☐ нет
21.	Внес в новую пробирку с соответствующей надписью и добавил в каждую пробирку по 40 мкл Раствора 4 и по 720 мкл Раствора 5. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	√ да ☐ нет

22.	Перемешал содержимое пробирок на вихревом смесителе в течение 5 секунд	√ да ☐ нет
23.	Пробирки поставил на инкубацию при - 20°C в течение 60 минут	√ да ☐ нет
24.	После инкубации центрифугировал пробирки в течение 15 минут при 12000 об/мин.	√ да ☐ нет
25.	Дозатором удалил супернатант и внес в каждую пробирку по 100 мкл Раствора 6. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	√ да ☐ нет
26.	Центрифугировал в течение 1 минуты при 12000 об/мин.	√ да ☐ нет
27.	Дозатором удалил супернатант и осадок подсушил при комнатной температуре в течение 15 минут. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	√ да ☐ нет
28.	Дозатором внес в каждую пробирку по 50 мкл Раствора 7. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	√ да ☐ нет
29.	Поставил пробирки с выделенной ДНК в холодильник на -20°C	√ да ☐ нет
30.	Записал в бланк лабораторного заключения полученный результат	√ да ☐ нет

14. Форма заключения для самостоятельного заполнения аккредитуемым лицом

Выделение ДНК в(на) объектах молекулярно-генетической экспертизы с использованием метода органической экстракции (фенольного метода)

А) Бланк лабораторного заключения (сценарий 1)

Цель: Выделение ДНК из **сухой крови** на объекте исследования

Результат: (выбрать правильный ответ)

☐ Требований протокола соблюдены, процедура выделения ДНК проведена успешно

☐ Требования протокола не соблюдены, считать процедуру выделения ДНК неуспешной

Выводы:

☐ 1. Из сухой крови на объекте исследования процедура выделения ДНК проведена успешно

☐ 2. Из сухой крови на объекте исследования успешно провести процедуру выделения ДНК не удалось

Судебный эксперт (эксперт-генетик) (подпись и расшифровка):

Дата:

Б) Бланк лабораторного заключения (сценарий 2)

Цель: Выделение ДНК из аппликатора с **буккальным эпителием**

Результат: (выбрать правильный ответ)

- | | |
|--|--|
| ☐ Требования протокола соблюдены, процедура выделения ДНК проведена успешно | ☐ Требования протокола не соблюдены, считать процедуру выделения ДНК неуспешной |
|--|--|

Выводы:

- ☐ 1. Из буккального эпителия на аппликаторе процедура выделения ДНК проведена успешно
- ☐ 2. Из буккального эпителия на аппликаторе успешно провести процедуру выделения ДНК не удалось

Судебный эксперт (эксперт-генетик) (подпись и расшифровка):

Дата:

15. Сведения о разработчиках паспорта

15.1. Организация-разработчик:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «РЦСМЭ» Минздрава России).

15.2. Авторы-составители:

Асташенко И.В. – судебный эксперт (генетик) отдела молекулярно-генетических экспертиз (исследований) ФГБУ "РЦСМЭ" Минздрава России.

Земскова Е.Ю. – к.м.н., врач судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории, заведующая отделом молекулярно-генетических экспертиз (исследований) ФГБУ "РЦСМЭ" Минздрава России.

Иванов П.Л. – д.б.н., профессор, судебный эксперт (генетик) высшей квалификационной категории, заместитель директора по высокотехнологичным исследованиям ФГБУ "РЦСМЭ" Минздрава России, эксперт РАН.

Приложение 1

Справочная информация

Метод органической экстракции (фенольный метод) выделения ДНК

I. Образец представлен в виде крови, высушенной на марле (ткани, бумаге) или образца буккального эпителия:

1. Вырезать фрагмент образца на марле (0,5×0,5 см) и поместить в полипропиленовую пробирку вместимостью 1,5 мл, добавить 200 мкл **Раствора 1**
2. Перемешать на вихревом смесителе в течение 3-5 сек.
3. Пробирки инкубировать в термостате при 55°C в течение 60 мин. Содержимое пробирки необходимо центрифугировать 30 сек при 12 000 об/мин и осторожно перенести надосадочную жидкость в чистую 1,5 мл полипропиленовую пробирку.
4. Добавить 200 мкл (равный объем) **Раствора 2 (фенол-хлороформ)**, перемешать в течение 10 сек и центрифугировать при комнатной температуре в течение 5 мин при 10000-12000 об/мин (10000 – 13000 g).
5. Отобрать верхнюю (водную) фазу и внести ее в полипропиленовую пробирку вместимостью 1,5 мл. В эту пробирку добавить 200 мкл (равный объем) **Раствора 3 (хлороформ)**.
6. Перемешать на вихревом смесителе в течение 3-5 сек и центрифугировать при комнатной температуре в течение 5 мин при 10000-12000 об/мин (10000 – 13000 g).
7. Отобрать водную фазу (200 мкл) и внести ее в полипропиленовую пробирку вместимостью 1,5 мл. В эту пробирку добавить 40 мкл **Раствора 4 (ацетат аммония, 5М)** и 720 мкл (3 объема) **Раствора 5 (этанол, 96%)**. Перемешать на вихревом смесителе в течение 3-5 сек.
8. Инкубировать при -20°C в течение 60 мин.
9. Центрифугировать при комнатной температуре в течение 15 мин при 12000 об/мин (13000 g).
10. Супернатант удалить. В пробирку внести 100 мкл **Раствора 6 (этанол, 75%)**.
11. Центрифугировать в течение 1 мин при комнатной температуре при 12000 об/мин (13000 g).
12. Супернатант удалить. Осадок подсушить на воздухе.
13. Растворить осадок в 50 мкл **Раствора 7 (ТЕ-буфер)**.

Раствор ДНК хранить при -20°C.

Приложение 2

В случае возникновения технического сбоя (сбой программного обеспечения, отключение электроэнергии и т.д.) и отсутствия возможности заполнения чек-листа онлайн возможно использование бумажных чек-листов.

ЧЕК – ЛИСТ

II этап аккредитационного экзамена Должность Судебный эксперт (эксперт-генетик)
 Дата _____ Номер кандидата _____

№ п/п	Действие аккредитуемого лица	Критерии оценки
1.	Уточнил вид и метод процесса и убедился в наличии необходимых материалов для его проведения	☐ да ☐ нет
2.	Использовал спецодежду для работы в лаборатории (надел одноразовый халат, нестерильные перчатки, маску, шапочку)	☐ да ☐ нет
3.	Обработал рабочее место детергентом	☐ да ☐ нет
4.	Подготовил оборудование к проведению тестирования (одноразовая простыня, штативы с наконечниками и пробирками, ножницы, пинцет)	☐ да ☐ нет
5.	Поместил объекты (исследуемый и контрольный) на рабочее место, визуально определил место вырезки. Промаркировал пробирки: «Образец», «Kv», поместил в штатив, открыл крышки	☐ да ☐ нет
6.	Сделал вырез из объекта (~ 1 см ³), поместил в пробирку с надписью «Образец», закрыл крышку. Сделал вырез из контрольного объекта, поместил в пробирку с надписью «Kv», закрыл крышку	☐ да ☐ нет
7.	Проверил срок годности используемых реагентов	☐ да ☐ нет
8.	Дозатором внес в пробирки по 200 мкл Раствора 1. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	☐ да ☐ нет
9.	Кратковременно встряхнул пробирки на вихревом смесителе	☐ да ☐ нет
10.	Пробирки поставил в термостат на инкубацию при 55°C в течение 60 минут	☐ да ☐ нет
11.	После инкубации центрифугировал пробирки 30 секунд при 12000 об/мин.	☐ да ☐ нет
12.	Дозатором внес в каждую пробирку по 200 мкл Раствора 2. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	☐ да ☐ нет
13.	Перемешал содержимое пробирки на вихревом смесителе 10 секунд	☐ да ☐ нет
14.	Поместил пробирки в центрифугу и центрифугировал в течение 5 минут 10000 об/мин.	☐ да ☐ нет
15.	Достал пробирки из ротатора, поставил в штатив, открыл крышки пробирок	☐ да ☐ нет
16.	Отобрал дозатором надсадочную жидкость и внес в новую пробирку с соответствующей надписью. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	☐ да ☐ нет
17.	Добавил в каждую пробирку по 200 мкл Раствора 3	☐ да ☐ нет

18.	Кратковременно перемешал содержимое пробирок на вихревом смесителе	☐ да ☐ нет
19.	Центрифугировал в течение 5 минут при 10000 об/мин.	☐ да ☐ нет
20.	Достал пробирки из центрифуги, поставил в штатив, отобрал дозатором надосадочную жидкость (200 мкл)	☐ да ☐ нет
21.	Внес в новую пробирку с соответствующей надписью и добавил в каждую пробирку по 40 мкл Раствора 4 и по 720 мкл Раствора 5. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	☐ да ☐ нет
22.	Перемешал содержимое пробирок на вихревом смесителе в течение 5 секунд	☐ да ☐ нет
23.	Пробирки поставил на инкубацию при - 20°C в течение 60 минут	☐ да ☐ нет
24.	После инкубации центрифугировал пробирки в течение 15 минут при 12000 об/мин.	☐ да ☐ нет
25.	Дозатором удалил супернатант и внес в каждую пробирку по 100 мкл Раствора 6. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	☐ да ☐ нет
26.	Центрифугировал в течение 1 минуты при 12000 об/мин.	☐ да ☐ нет
27.	Дозатором удалил супернатант и осадок подсушил при комнатной температуре в течение 15 минут. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	☐ да ☐ нет
28.	Дозатором внес в каждую пробирку по 50 мкл Раствора 7. Сбросил наконечники в контейнер для сбора отходов класса Б	☐ да ☐ нет
29.	Поставил пробирки с выделенной ДНК в холодильник на -20°C	☐ да ☐ нет
30.	Записал в бланк лабораторного заключения полученный результат	☐ да ☐ нет

ФИО члена АПК

Подпись

Отметка о внесении в базу (ФИО)