

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель генерального директора
по научно-производственной деятель-
ности федерального государственного
бюджетного учреждения «Центр стра-
тегического планирования и управле-
ния медико-биологическими рисками
здоровья» Федерального медико-био-
логического агентства (ФГБУ «ЦСП»
ФМБА России)

_____ Г.А. Шипулин
« 2 » _____ 2021 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК

из биологического материала

«АмплиТест[®] Магно-Сорб-Турбо»



ФГБУ «ЦСП» ФМБА России,
119121, Российская Федерация,
г. Москва, Погодинская ул., д.10 стр. 1

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	3
НАЗНАЧЕНИЕ	3
ПРИНЦИП МЕТОДА	4
КОМПЛЕКТАЦИЯ	4
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ	5
Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала	6
Воспроизводимость	7
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	9
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ.....	11
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА ..	14
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ РНК/ДНК.....	15
СОСТАВ.....	15
ЭКСТРАКЦИЯ РНК/ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	16
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.....	20
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ.....	21
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ.....	22

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО	- внутренний контрольный образец
ГЭ	- геномный эквивалент – количество РНК/ДНК-мишени, содержащаяся в 1 геноме организма (вирусов, бактерий, грибов).
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ОТ-ПЦР	- обратная транскрипция и ПЦР-амплификация
ПКО	- положительный контроль экстракции РНК/ДНК
ПИБ	- потенциально интерферирующие вещества
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РУ	- регистрационное удостоверение
СОП № 6 ПКО РНК 2019-nCoV	- стандартный образец предприятия, содержащий фрагмент РНК SARS-CoV-2
ФГБУ «ЦСП» ФМБА России	- федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала «АмплиТест® Магно-Сорб-Турбо», далее – комплект реагентов «АмплиТест® Магно-Сорб-Турбо», предназначен для экстракции (выделения) тотальной РНК/ДНК из биологического материала человека (мазков со слизистой носо- и ротоглотки) в целях исследования полученных образцов методом амплификации нуклеиновых кислот.

Показания и противопоказания к применению комплекта реагентов

Комплект реагентов является вспомогательным средством в клинической лабораторной диагностике и используется на преаналитическом этапе анализа для экстракции тотальной РНК/ДНК из биологического материала человека (мазков со слизистой носо- и ротоглотки) с целью последующего исследования методом амплификации нуклеиновых кислот.

Противопоказания к применению - нарушение целостности упаковки, несоответствие внешнего вида реагента описанию, несоблюдение условий транспортирования и хранения согласно инструкции, истекший срок годности.

Потенциальные пользователи медицинского изделия

К работе с комплектом реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»; МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»).

Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия

Комплект реагентов используется для экстракции РНК/ДНК из биологического материала, полученного от лиц вне зависимости от популяционной, демографической принадлежности к какой-либо расе или народности.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип действия основан на лизисе клеток и денатурации клеточных белков с помощью раствора для лизиса в присутствии частиц магнетизированной силики (магнитного сорбента). Растворенная ДНК/РНК связывается с частицами магнитного сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются при отмывке после осаждения сорбента с помощью магнитной силы. При последующем добавлении к магнитному сорбенту буфера для элюции (РНК-буфера) происходит переход НК в раствор с поверхности сорбента, который затем отделяется от раствора магнитной силой.

КОМПЛЕКТАЦИЯ

Комплект реагентов выпускается в 1 варианте исполнения:

«АмплиТест® Магно-Сорб-Турбо» вариант 100 - комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала.

Рассчитан на экстракцию РНК/ДНК из 100 образцов, включая контроли.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного комплекта реагентов применимы следующие характеристики:

Таблица 1— Специфическая активность

Наименование показателя	Норма
1.Результат при тестировании РНК коронавируса SARS-CoV-2 в разведении стандартного образца предприятия СОП № 6 ПКО РНК 2019-nCoV до концентрации, соответствующей аналитической чувствительности набора 1×10^3 ГЭ/мл	Определено значение Ct менее граничного по каналам для флуорофоров FAM, JOE
2.ОКО – отрицательный контрольный образец	Определено значение Ct менее граничного по каналу для флуорофора FAM. Значение Ct отсутствует по каналу для флуорофора JOE

Примечание: при анализе совместно с набором реагентов «АмплиТест SARS CoV-2 авто» производства ФГБУ «ЦСП» ФМБА России (Р.У. № РЗН 2020/10118).

Таблица 2 — Эффективность экстракции

Наименование показателя	Норма
Соотношение концентраций РНК SARS CoV-2 в модельном образце биоматериала, содержащем стандартный образец предприятия СОП № 6 ПКО РНК 2019-nCoV в концентрации 1×10^4 ГЭ/мл, прошедшем экстракцию, и контрольном образце СОП № 6 ПКО РНК 2019-nCoV в концентрации 1×10^4 ГЭ/мл без экстракции.	Эффективность экстракции не менее 50 %

Примечание: при анализе с помощью системы для проведения капельной цифровой ПЦР «QX200™ Droplet Digital™ PCR System» и термоциклера для амплификации нуклеиновых кислот «C1000 Touch Thermal Cycler» производства «Био-Рад Лабораториз, Инк.», США (Р.У. № ФСЗ 2008/03399).

Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала

Для контроля процесса исследования клинического материала методом амплификации нуклеиновых кислот рекомендуется использовать внутренний контрольный образец (ВКО). Если он предусмотрен в наборе для амплификации нуклеиновых кислот, ВКО добавляется в каждый исследуемый и контрольный образец согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. ВКО проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования ВКО должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации. В ходе реакции амплификации наличие сигнала, свидетельствующего о накоплении фрагментов кДНК ВКО, говорит об отсутствии ингибирования ОТ и амплификации.

Непригодными для исследования являются образцы, объем, условия/срок хранения и транспортировки которых не соответствуют требованиям, указанным в разделе «Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала».

Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции были выбраны эндогенные – муцин, гемоглобин, и экзогенное – водный раствор хлоргексидина биглюконата для местного и наружного применения, 0,05 % - вещества, которые могут присутствовать в биологическом материале (мазки со слизистой носо- и ротоглотки), используемом для исследования.

Для изучения влияния потенциально интерферирующих веществ (ПИБ) на полученные результаты испытуемым комплектом реагентов «АмплиТест® Магно-Сорб-Турбо» (экстракция РНК/ДНК в ручном и автоматическом режиме) совместно с набором реагентов «АмплиТест SARS CoV-2 авто» (проведение реакций ОТ-ПЦР) были протестированы модельные образцы, содержащие и не содержащие эндогенные и экзогенные потенциально интерферирующие вещества. Модельные образцы представляли собой мазки со слизистой носо- и ротоглотки, не содержащие РНК коронавируса SARS-CoV-2, контаминированные

разведением СОП № 6 ПКО РНК 2019-nCoV до конечной концентрации 1×10^4 ГЭ/мл, с последующим добавлением эндогенных (муцин, гемоглобин) и экзогенного (водный раствор хлоргексидина биглюконата для местного и наружного применения, 0,05 %) ПИВ в максимально возможной концентрации, и без добавления данных веществ. Вычисляли разницу полученных средних значений C_t ($\Delta C_{t\text{ср.}}$) между контрольными и испытуемыми образцами. При значении $\Delta C_{t\text{ср.}}$ менее 1,5 циклов делали вывод об отсутствии влияния потенциально интерферирующих веществ на результат ОТ-ПЦР.

Результаты тестирования представлены в табл. 3.

Таблица 3 — Оценка влияния потенциально интерферирующих веществ

Биологический материал	Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Протестированная концентрация в образце	Наличие интерференции
Мазки	Эндогенные вещества	Муцин	5%	Не обнаружено
		Гемоглобин	100 мг/мл	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Водный раствор хлоргексидина биглюконата, 0,05 %	2% (v/v)	Не обнаружено

Воспроизводимость

Воспроизводимость исследования была определена в двух независимых лабораториях, в разные дни, на различных приборах путем тестирования положительных и отрицательных модельных образцов. Положительные образцы представляли собой разведения стандартного образца предприятия СОП № 6 ПКО РНК 2019-nCoV с концентрацией 1×10^3 ГЭ/мл, в качестве отрицательного образца был использован реагент ОКО из набора реагентов «АмплиТест SARS CoV-2 авто». Анализ проводился совместно с набором реагентов «АмплиТест SARS CoV-2 авто» производства ФГБУ «ЦСП» ФМБА России.

Результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4 – Воспроизводимость исследования

Тип образцов	Внутри постановки внутри серии (повторяемость)		Между сериями (повторяемость)		Между лабораториями внутри серии (воспроизводимость)		Итого воспроизводимость	
	Количество образцов	Совпадение результатов, %	Количество образцов	Совпадение результатов, %	Количество образцов	Совпадение результатов, %	Количество образцов	Совпадение результатов, %
Экстракция РНК в ручном режиме								
Положительные СОП №6 1×10^3 ГЭ/мл	6	100	12	100	12	100	18	100
Отрицательные	6	100	12	100	12	100	18	100
Экстракция РНК в автоматическом режиме								
Положительные СОП №6 1×10^3 ГЭ/мл	6	100	12	100	12	100	18	100
Отрицательные	6	100	12	100	12	100	18	100

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль этапа экстракции НК осуществляется одновременно с оценкой достоверности результатов этапа исследования методом амплификации нуклеиновых кислот.

Контроли экстракции НК

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы (ВКО, ОКО, ПКО), если они предусмотрены для проведения тестирования согласно инструкции к используемому набору реагентов для исследования методом амплификации нуклеиновых кислот:

- внутренний контрольный образец (ВКО), см. раздел «Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала»;

- отрицательный контроль (ОКО) для подтверждения отсутствия ложноположительных результатов и контроля контаминации. В качестве ОКО используют реагент, входящий в состав набора реагентов для исследования методом амплификации нуклеиновых кислот;

- положительный контроль (ПКО), если он предусмотрен для проведения тестирования. В качестве ПКО используют реагент, входящий в состав набора реагентов для исследования методом амплификации нуклеиновых кислот.

Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора реагентов для исследования методом амплификации нуклеиновых кислот.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Исследования по выявлению в клиническом материале возбудителей инфекционных болезней должно проводиться с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" и СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий». Материал для исследований подлежит предварительной обработке в соответствии методическими указаниями МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Рассматривать исходные исследуемые образцы биологического материала как инфекционно-опасные; инактивировать исходные исследуемые образцы биологического материала в соответствии методическими указаниями МУ 1.3.2569-09.

- Исследования проводятся в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

- Температура в помещениях лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75 %.

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

- Поверхности столов, а также помещения, в которых проводится исследование проб, до начала и после завершения работ необходимо подвергать ультрафиолетовому облучению в течение 30 мин.

- Комплект реагентов предназначен для одноразового применения для проведения исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).

- Комплект реагентов готов к применению согласно инструкции. Применять комплект реагентов строго по назначению.

- К работе с комплектом реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»).

- Не использовать комплект реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

- Не использовать комплект реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не использовать комплект реагентов по истечении срока годности.

- Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Вреден при проглатывании. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и при необходимости обратиться за медицинской помощью.

- При соблюдении условий транспортировки, эксплуатации и хранения риски взрыва и возгорания отсутствуют.

- Информационное письмо о безопасности комплекта реагентов доступно по запросу.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности комплект реагентов безопасен.

Специфические воздействия комплекта реагентов на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Взятие исследуемого материала

1. Реагент для взятия, транспортировки и хранения мазков из верхних дыхательных путей «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков». (ПУ № ФСР 2009/05515, производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора или аналогичный).
2. Зонд-тампон для отбора, транспортировки и хранения биологических проб (например, DELTALAB S.L.U. («ДЕЛЬТАЛАБ С.Л.У.»), Испания или аналогичный).
3. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся или завинчивающиеся пробирки с крышками объемом 1,5 -

2,0 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).

Предварительная подготовка исследуемого материала

1. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся или завинчивающиеся пробирки с крышками объемом 1,5 - 2,0 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100, до 200, до 1000 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
3. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
4. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
5. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
6. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс г (например, Eppendorf Manufacturing Corporation («Эппендорф Мануфэктуринг Корпорэйшн»), Германия, или аналогичная).
7. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
8. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
9. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

Экстракция РНК/ДНК из исследуемых образцов

1. Ламинарный бокс (например, «БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия, класс биологической безопасности II тип А).
2. Автоматическая станция для экстракции НК (например, процессор магнитных частиц «KingFisher Flex 96», «Thermo Fisher Scientific», США, Р.У. № ФСЗ 2009/05562), зарегистрированная в РФ и удовлетворяющая следующим требованиям:
 - возможность реализации последовательности этапов экстракции в соответствии с данной Инструкцией;
 - наличие магнитного штатива или магнитных стержней для

сбора магнитного сорбента;

- наличие термостата или термошейкера с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С;
- наличие системы перемешивания жидкостей шейкированием или пипетированием.

3. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, «ТЕРМО 24-15», «Биоком», Россия).
4. Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
5. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1», г. Ульяновск, Россия).
6. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5-2,0 мл (например, «Promega», США).
7. Набор электронных или механических дозаторов переменного объема (например, «Ленпипет», Россия).
8. Одноразовые полипропиленовые закручивающиеся или плотно закрывающиеся микропробирки объемом 1,5 мл (например, «Ахуген», США).
9. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 200 и до 1000 мкл (например, «Ахуген», США).
10. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 10 и 200 мкл (например, «Ахуген», США).
11. Раствор натрия хлорида 0,9% (стерильный физиологический раствор) или фосфатный буферный раствор (PBS), pH=7,2–7,6.
12. Штативы для микропробирок объемом 1,5 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия) и наконечников (например, «Ахуген», США).
13. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
14. Отдельный халат и одноразовые перчатки.
15. Емкость с дезинфицирующим раствором.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Мазки со слизистой носоглотки и ротоглотки рекомендуется совмещать в одной пробирке и исследовать как один образец. Для этого берут мазки разными зондами сначала со слизистой нижнего носового хода, а затем из ротоглотки, при этом рабочие концы зондов после взятия мазков у пациента помещаются в одну пробирку с 0,5 мл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков и исследуются как один образец.

Мазки со слизистой нижнего носового хода

Если полость носа заполнена слизью, перед процедурой рекомендуется провести высмаркивание. Для взятия мазков используют сухие стерильные зонды из полистирола с вязкими тампонами. Зонд вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2–3 см до нижней раковины, слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину до носоглотки, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Общая глубина введения зонда должна составлять примерно половину расстояния от ноздри до ушного отверстия (5–6 см). После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с вязким тампоном) помещают в пробирку с 0,5 мл транспортной среды для хранения и транспортировки респираторных мазков. Конец зонда отламывают, придерживая крышкой пробирки с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть пробирку. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают и маркируют.

Мазки с задней стенки ротоглотки.

Образцы берут сухими стерильными зондами с вязкими тампонами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с вязким тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с 0,5 мл транспортной среды и зондом с мазком из носоглотки. Конец зонда отламывают, придерживая крышкой пробирки с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть пробирку. Пробирку с раствором и

рабочей частью зонда закрывают, маркируют. Допускается хранение материала до проведения исследования в течение 3 сут при температуре от 2 до 8 °С, при температуре от минус 24 до минус 16 °С – длительно.

ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ РНК/ДНК

Мазки со слизистой носо- и ротоглотки.

Содержимое закрытой пробирки перемешать на вортексе и центрифугировать в течение 5 с при 5 тыс об/мин на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки пробирки. Для экстракции РНК/ДНК отбирают 100 мкл образца.

СОСТАВ

«АмплиТест® Магно-Сорб-Турбо» вариант 100 – комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала – включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий буфер Магно	Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета*	25	2 флакона
Буфер GT	Прозрачная бесцветная жидкость	1	1 пробирка
Магнитный сорбент	Суспензия коричневого цвета	1	2 пробирки
Раствор для отмывки Турбо	Прозрачная бесцветная жидкость	25	2 флакона
РНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1,25	8 пробирок

* При хранении при температуре от 2 до 8°С возможно образование осадка в виде кристаллов.

«АмплиТест® Магно-Сорб-Турбо» вариант 100 рассчитан на выделение РНК/ДНК из 100 образцов, включая контроли.

ЭКСТРАКЦИЯ РНК/ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

ВНИМАНИЕ! При работе с РНК/ДНК необходимо использовать только одноразовые пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива

1. **Лизирующий буфер Магно** (если он хранился при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов.
2. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок на 1,5 мл с плотно закрывающимися крышками (включая отрицательный и положительный контроли выделения). Промаркировать пробирки.
3. Смешать в отдельной пробирке на 1,5 мл ВКО (если он предусмотрен для проведения тестирования, согласно инструкции к используемому набору реагентов для амплификации нуклеиновых кислот), Буфер GT и Магнитный сорбент из расчета на один образец 10 мкл ВКО, 10 мкл Буфера GT и 20 мкл Магнитного сорбента. При расчете необходимо учитывать запас – рассчитывать на одну точку больше.
4. Внести в пробирки по 40 мкл¹ подготовленной смеси ВКО, буфера GT и магнитного сорбента.
5. Добавить в пробирки 500 мкл Лизирующего буфера Магно.
6. Добавить в каждую пробирку с лизирующим буфером 100 мкл исследуемого образца и тщательно перемешать на вортексе.
7. В пробирку отрицательного контроля (ОК) выделения внести 100 мкл фосфатного буфера или стерильного физиологического раствора или 100 мкл ОК (если он предусмотрен в комплектации набора для амплификации нуклеиновых кислот). В пробирку положительного контроля (ПК) выделения внести ПК (не более 100 мкл), если он предусмотрен для проведения тестирования в комплектации набора для амплификации нуклеиновых кислот.
8. Содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе.

¹ Если ВКО не предусмотрен для проведения тестирования, внести в пробирки по 30 мкл подготовленной смеси буфера GT и магнитного сорбента.

9. Прогреть пробирки 5 мин при 60°C в термостате.
10. Кратким центрифугированием осадить капли и перенести пробирки в магнитный штатив на 1 мин.
11. Аккуратно отобрать надосадочную жидкость по внутренней стенке, не задевая осадок, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник на 200 мкл для каждой пробы.
12. Добавить в пробирки по 500 мкл раствора для отмывки Турбо.

ВНИМАНИЕ! После добавления раствора для отмывки Турбо содержимое пробирок не перемешивать.

13. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива.
14. Добавить 100 мкл РНК-буфера и перемешать на вортексе.
15. Поместить пробирки в термостат при температуре 60 °C на 5 мин.
16. Коротко осадить капли на вортексе и переставить пробирки в магнитный штатив. Инкубировать 2 мин.
17. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.
18. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, перенести надосадочную жидкость в новые пробирки.

ВНИМАНИЕ! Очищенная РНК/ДНК может храниться при температуре не выше минус 16 °C до 1 месяца и при температуре не выше минус 68°C – год и более. Не рекомендуется хранить очищенную РНК более 30 мин при температуре плюс 2-8 °C.

Автоматическая методика экстракции

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную ниже.

1. Лизирующий буфер Магно (если он хранился при температуре от 2 до 8 °C) прогреть при температуре 60 °C до полного растворения кристаллов.
2. Смешать в отдельной пробирке ВКО (если он предусмотрен для проведения тестирования согласно инструкции к используемому набору реагентов для амплификации нуклеиновых кислот), Буфер GT и Магнитный сорбент из расчета на один

образец 10 мкл ВКО, 10 мкл Буфера GT и 20 мкл Магнитного сорбента. При расчете необходимо учитывать запас – рассчитывать на одну точку больше.

3. Внести в пробирки или лунки глубоколоночного планшета (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных образцов по 40 мкл² подготовленной смеси ВКО, буфера GT и магнитного сорбента.
4. Добавить в пробирки или лунки глубоколоночного планшета со смесью ВКО, буфера GT и магнитного сорбента 500 мкл **Лизирующего буфера Магно**.
5. Добавить в пробирки или лунки глубоколоночного планшета со смесью ВКО, буфера GT, магнитного сорбента и Лизирующего буфера Магно по 100 мкл исследуемых образцов.
6. В пробирку отрицательного контроля (ОК) выделения внести 100 мкл фосфатного буфера или стерильного физиологического раствора или 100 мкл ОК (если он предусмотрен в комплектации набора для амплификации нуклеиновых кислот). В пробирку положительного контроля (ПК) выделения внести ПК (не более 100 мкл), если он предусмотрен для проведения тестирования в комплектации набора для амплификации нуклеиновых кислот.
7. Поместить на борт автоматической станции в зависимости от ее модели емкости с Раствором для отмывки Турбо и РНК-буфером, или внести в лунки соответствующих размещаемых на автоматической станции глубоколоночных планшетов по 500 мкл Раствора для отмывки Турбо, по 100 мкл РНК-буфера.
8. Установить пробирки или планшет с исследуемыми образцами на борт автоматической станции.
9. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами при 60°C в течении 5 мин.
10. Поместить пробирки с исследуемыми образцами в магнитный штатив или опустить в лунки планшета с исследуемыми образцами магнитные стержни на 1 мин.

² Если ВКО не предусмотрен для проведения тестирования, внести в пробирки или лунки глубоколоночного планшета по 30 мкл подготовленной смеси буфера GT и магнитного сорбента.

11. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в каждую пробирку с исследуемыми образцами по 500 мкл Раствора для отмывки Турбо или перенести магнитные стержни с намагниченным сорбентом в лунки планшета с раствором для отмывки Турбо.

ВНИМАНИЕ! После добавления Раствора для отмывки Турбо содержимое пробирок или планшета не перемешивать.

12. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива, или поднять магнитные стержни с сорбентом из лунок планшета с жидкостью.
13. Добавить в пробирки по 100 мкл РНК-буфера или поместить магнитные стержни в лунки планшета с РНК буфером.
14. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами при 60°C в течении 5 мин.
15. Перенести раствор в чистые пробирки, не вынимая пробирки с магнитным сорбентом из магнитного штатива, или удалить магнитный сорбент из лунок планшета с помощью магнитных стержней.
16. Полученная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.

ВНИМАНИЕ! Очищенная РНК/ДНК может храниться при температуре не выше минус 16 °С до 1 месяца и при температуре не выше минус 68°C – год и более. Не рекомендуется хранить очищенную РНК более 30 мин при температуре плюс 2-8 °С.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 12 месяцев. Комплект реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов.

Транспортирование. Комплект реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут в термоконтейнерах, содержащих хладоэлементы, всеми видами крытых транспортных средств.

Хранение. Комплект реагентов «АмплиТест® Магно-Сорб-Турбо» хранить при температуре от плюс 2 до плюс 8 °С.

Холодильная камера должна обеспечивать регламентированный температурный режим.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Изготовитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик комплекта реагентов требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

Рекламации на качество комплекта реагентов направлять по адресу 119121, Российская Федерация, г. Москва, Погодинская улица, дом 10 стр.1, e-mail: promlab@cspfmmba.ru.

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению комплекта реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации комплекта реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Руководитель
производственной лаборатории

Ж.Е.Тарасова

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению



Код партии



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Использовать до



Дата изменения



Обратитесь к инструкции по применению



Температурный диапазон



Дата изготовления



Изготовитель



Беречь от влаги

Зам. генерального директора по научно-
производственной деятельности ФГБУ «ЦСП»
ФМБА России