

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Амплитек»

А.В. Ходяков

15.03.2022



НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ РНК ИЗ
БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ЧЕЛОВЕКА
(РНК-100 (R))

Инструкция по применению версии 15.03.22

Лист утверждения

Заместитель генерального директора по
науке ООО «Амплитек»

А.С. Коновалов

15.03.2022

Руководитель отдела разработки
документации ООО «Амплитек»

Д.А. Бурдачёва

15.03.2022

РНК-100 (R)

Набор реагентов для экстракции РНК из
биологического материала человека (РНК-100 (R))

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

Форма 1 **REF** E003-1  48

Форма 2 **REF** E003-2  96

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ	4
1.1 Область применения	4
2 ФОРМЫ ВЫПУСКА.....	4
3 СОСТАВ.....	4
4 ПРИНЦИП МЕТОДА	5
5 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	6
6 ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	7
7 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ.....	9
7.1 Потенциально интерферирующие вещества.....	10
8 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	11
8.1 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 1 (автоматическая методика с использованием автоматической станции «Amplitech E1»).....	11
8.2 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 2 (автоматическая методика с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™).....	12
8.3 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием магнитного штатива или центрифугирования).....	13
8.4 Хранение очищенной РНК.....	15
9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	16
9.1 Контроли, используемые этапе экстракции РНК	16
9.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации	16
10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА.....	16
11 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	17
11.1 Срок годности.....	17
11.2 Хранение	17
11.3 Транспортирование	17
11.4 Эксплуатация	17
12 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ	17
13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	17
14 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	19
15 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА.....	19
16 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	19

ВВЕДЕНИЕ

Настоящая инструкция по применению версии 15.03.22 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для экстракции РНК из биологического материала человека» (РНК-100 (R))» по ТУ 21.20.23-002-19926214-2021 (далее – набор).

Краткое наименование набора: РНК-100 (R).

Набор следует применять в соответствии с действующей версией инструкции по применению. Для удобства работы в лаборатории допускается использовать действующую версию краткого руководства по применению набора.

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для экстракции РНК SARS-CoV-2 из мазков из носоглотки и/или ротоглотки человека, полученных от лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания с подозрением на инфекцию COVID-19, а также от лиц, не имеющих признаков простудных заболеваний, для последующего исследования методом ОТ-ПЦР. Противопоказания к применению набора отсутствуют.

Набор может применяться в зависимости от его формы выпуска для экстракции РНК совместно с автоматическими станциями «Amplitech E1» (ООО «Амплитек») и KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific, Финляндия), а также для ручных методик экстракции РНК с использованием магнитного штатива или центрифуги.

Набор предназначен для применения с набором реагентов «Amplitech SARS-CoV-2 (R)» (ООО «Амплитек»).

1.1 Область применения

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro* (экстракции РНК SARS-CoV-2 из биологического материала человека). Набор может применяться в клинико-диагностических лабораториях.

2 ФОРМЫ ВЫПУСКА

Набор выпускается в двух формах¹ (см. таблицу 1).

Таблица 1

Описание форм выпуска набора

Форма	Назначение	Количество исследований, в том числе для контролей
1	Для проведения экстракции РНК с применением автоматической методики с использованием автоматической станции пробоподготовки «Amplitech E1» (ООО «Амплитек»).	48
2	Для проведения экстракции РНК с применением: - ручной методики с использованием центрифугирования, - ручной методики с использованием магнитного штатива, - автоматической методики с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific, Финляндия).	96

3 СОСТАВ

Состав набора указан в таблицах 2, 3 и 4.

Таблица 2

Состав формы 1

Компонент	Количество	Внешний вид
Картридж с реагентами РНК-100 (R)	2 шт.	96-луночные планшеты с реагентами, запаянные фольгированной плёнкой
Одноразовые наконечники	48 шт.	Наконечники с фильтром
Одноразовые пробирки	48 шт.	Стрипованные или индивидуальные пробирки
Плёнки для картриджа	4 шт.	Клейкие плёнки

¹ Набор в форме выпуска 1 упакован в коробку из картона, в форме выпуска 2 - в полиэтиленовый пакет с застёжкой Zip-Lock.

Компонент	Количество	Внешний вид
Инструкция по применению	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	1 шт.	В электронном виде ² по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

Таблица 3

Расположение и объём реагентов в картридже, входящем в состав формы 1

Ряды ячеек	Реагент	Номинальный объём в ячейке, мл	Внешний вид
A, E	Буфер В1 (Раствор для лизиса)  Опасно ³	0,50	Прозрачная бесцветная жидкость
B, F	Реагент МЕ (Магнетизированная силика)	0,30	Суспензия ⁴ от рыжего до чёрного цвета
C, G	Буфер В2 (Раствор для отмывки)  Опасно ³	0,70	Прозрачная бесцветная жидкость
D, H	Буфер В3(R) (Раствор для элюции)	1,05	Прозрачная бесцветная жидкость

Таблица 4

Состав формы 2

Компонент	Номинальный объём, мл	Количество	Внешний вид
Буфер В1 (Раствор для лизиса)  Опасно ³	48,0	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость
Реагент М (Магнетизированная силика)	0,96	1 пробирка	Суспензия ⁴ от рыжего до чёрного цвета
Буфер В2 (Раствор для отмывки)  Опасно ³	68,0	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость
Буфер В3(R) (Раствор для элюции)	101,0	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	–	1 шт.	В бумажном виде и электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	–	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	–	1 шт.	В электронном виде ² по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/
Протокол экстракции «RNA100R-KF»	–	1 шт.	В электронном виде по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/

4 ПРИНЦИП МЕТОДА

Экстракция РНК проводится методом магнитной сепарации. Процедура экстракции РНК включает:

- обработку исследуемого образца лизирующим раствором,
- связывание РНК с частицами магнитного сорбента (магнетизированной силики),

² В случае отсутствия доступа к Интернету обратитесь в службу технической поддержки по телефону (495) 374-13-46 для запроса о предоставлении бумажной версии паспорта.

³ Реагенты содержат опасные вещества, информацию по которым см. в разделе 6.

⁴ В процессе хранения возможно оседание магнетизированной силики, вследствие чего образуется осадок от рыжего до чёрного цвета в прозрачном растворе.

- удаление других компонентов лизированного биологического материала последующими отмывками сорбента при осаждении магнитного сорбента с РНК под действием постоянного магнитного поля или с использованием центрифуги,
- элюцию РНК при добавлении раствора для элюции к магнитному сорбенту.

5 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются оборудование и материалы, указанные в таблице 5.

Таблица 5

Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором

Форма выпуска	Необходимое оборудование и материалы ⁵
ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКаз и РНКаз.	
Форма 1	• автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» (ООО «Ампитек», Россия); • бокс микробиологической безопасности класс II (тип A) (ПУ № ФСР 2012/13259); • центрифуга-вортекс (ПУ № ФС № 2005/518); • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 10 до 100 мкл (ПУ № ФСР 2009/05681); • штатив для пробирок объемом 2,0 мл (ПУ № ФСЗ 2012/11892); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 10 и 100 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз (ПУ № ФСЗ 2012/12077); • контейнеры для элюата согласно требованиям, указанным в руководстве по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1»; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.
Автоматическая методика экстракции	
Форма 2	• процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher™ и расходные материалы к нему (Thermo Fisher Scientific, Финляндия; ПУ № ФСЗ 2009/05562); • бокс микробиологической безопасности класс II (тип A) (ПУ № ФСР 2012/13259); • центрифуга-вортекс (ПУ № ФС № 2005/518); • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 100 до 1000 мкл (ПУ № ФСР 2009/05681); • штатив для пробирок объемом 2,0 мл (ПУ № ФСЗ 2012/11892); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 100 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз (ПУ № ФСЗ 2012/12077); • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.
Ручная методика экстракции	
	• бокс микробиологической безопасности класс II (тип A) (ПУ № ФСР 2012/13259); • центрифуга-вортекс (ПУ № ФС № 2005/518); • микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10000 x g (ПУ № ФСЗ 20212/13316) или магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл (ПУ № РЗН 2022/16360) (в зависимости от выбранной ручной методики); • термостат для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С (ПУ № ФС № 2005/519); • вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой (ПУ № ФСР 2010/08928);

⁵ В скобках указаны номера регистрационных удостоверений (ПУ) для медицинских изделий, совместное применение с которыми было валидировано в ходе проведения клинических испытаний.

Форма выпуска	Необходимое оборудование и материалы ⁵
	• дозаторы переменного объёма, механические или электронные, с возможностью дозирования от 100 до 1000 мкл (ПУ № ФСР 2009/05681); • штатив для пробирок объёмом 1,5 и 2,0 мл (ПУ № ФСЗ 2012/11892); • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • микроцентрифужные пробирки объёмом 1,5 мл с крышками, одноразовые, свободные от ДНКа и РНКа (ПУ № ФСЗ 2009/05024); • наконечники для дозаторов переменного объёма, с фильтром, объёмом до 100 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКа и РНКа (ПУ № ФСЗ 2012/12077); • наконечники для дозаторов переменного объёма, без фильтра, объёмом до 200 мкл, одноразовые (ПУ № ФСЗ 2012/12077); • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.

6 ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Класс потенциального риска применения набора (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012) – 3.

Работа должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р 52905 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов исследования.

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и прошедший специальную подготовку по безопасности работы с патогенными биологическими агентами II группы патогенности.

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Утилизировать реагенты, входящие в состав формы 2, и плёнки для картриджа, входящие в состав формы 1, (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения) в соответствии с требованиями 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» к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Утилизировать одноразовые наконечники и одноразовые пробирки, входящие в состав формы 1, (неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением

срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения), в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Утилизировать биологический материал, картриджи с внесёнными образцами, а также загрязнённые биологическим материалом расходные материалы (в том числе одноразовые наконечники и пробирки, входящие в состав набора) и инструменты в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса В.

- Утилизировать внешнюю упаковку набора, инструкцию по применению и краткое руководство в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса А.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию, указанному в таблицах 2-4 для соответствующей формы выпуска набора.

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

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром или без фильтра (при удалении надсадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя).

- Использовать защитную одежду в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Все операции проводить только в одноразовых неопудренных перчатках для исключения контакта с организмом человека.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать вдыхания паров, контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

Реагент М, Реагент МЕ и Буфер В3(R) содержат натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируются как опасные для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть поражённое место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

Буфер В1 и Буфер В2 классифицируются как опасные. Вещества, которые повлияли на их классификацию, а также коды заявлений об опасности и мер предосторожности, требуемых при работе с данными реагентами, приведены в таблице 6. Расшифровка кодов представлена в таблице 7. Листы безопасности реагентов доступны по запросу.

Информация об опасных реагентах, входящих в состав набора

Реагент	Опасные вещества ⁶	Код заявления об опасности	Код меры предосторожности
Буфер В1, Буфер В2	Гуанидин гидрохлорид, гуанидин изотиоцианат, изопропанол	H225, H302, H314, H319, H336, H412, EUN032	P210, P241, P242, P243, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338, P332+P313, P337+P313, P363, P370+P378, P403+P233, P501

Таблица 7

Расшифровка кодов заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси.	H336: Может вызывать сонливость или головокружение.
H302: Вредно при проглатывании.	H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.
H314: При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги.	EUN032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
H319: При попадании в глаза вызывает серьезное раздражение.	
Меры предосторожности	
P210: Беречь от источников воспламенения/нагрева/искр/открытого огня. Не курить.	P304+P340+P312: ПРИ ВДЫХАНИИ: Свежий воздух, покой. Обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии.
P241: Использовать взрывобезопасное оборудование и освещение.	P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз снять их и продолжить промывание водой.
P242: Использовать искробезопасные инструменты.	P332+P313: При раздражении кожи: обратиться за медицинской консультацией.
P243: Беречь от статического электричества.	P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией.
P261: Избегать вдыхания паров.	P363: Перед повторным использованием выстирать загрязненную одежду.
P264: Вымыть тщательно руки после работы.	P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения.
P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.	P403+P233: Хранить в хорошо вентилируемом месте в плотно закрытой упаковке.
P271: Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении.	P501: Утилизировать содержимое в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.
P273: Избегать попадания в окружающую среду.	
P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства защиты глаз.	
P301+P330+P331: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополоскать рот. Не вызывать рвоту!	
P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой или принять душ.	

Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека.

7 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Набор предназначен для исследования только биологического материала, указанного в разделе 1. Взятие, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с:

- МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19»;
- требованиями, перечисленными в таблице 8.

⁶ Буфер В1 и Буфер В2 содержат натрия азид в концентрации (не более 0,05 %), не влияющей на классификацию данных реагентов как опасных.

Требования к взятию, условиям транспортирования и хранения мазков из ротоглотки и/или носоглотки

Взятие биологического материала	
Взятие мазка провести с помощью сухого стерильного одноразового зонда-тампона (например, ООО «ФармМедПолис РТ», Россия; РУ № РЗН 2021/13989) в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия; РУ № ФСР 2009/05011) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).	
Условия транспортирования	Условия хранения
При температуре от 2 °С до 8 °С	- При температуре от 2 °С до 8 °С не более 5 суток; - При температуре минус 70 °С более 5 суток. Допускается однократное замораживание материала. Примечание – При невозможности обеспечить хранение при минус 70 °С допустимо хранить при минус 20 °С.

7.1 Потенциально интерферирующие вещества

Потенциально интерферирующие вещества (ингибиторы ОТ-ПЦР) и их максимальные концентрации в образце, для которых оценивалось их ингибирующее влияние на ОТ-ПЦР, перечислены в таблице 9.

Таблица 9

Потенциально интерферирующие вещества

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
Мазки из носоглотки и/или ротоглотки	Раствор хлоргексидина	Хлоргексидин	Антисептическое средство для местного применения	0,25 %	10 % от рекомендованной дозы
	Раствор Люголя с глицерином	Йод		0,1 %	
	Стоматофит®	Экстракт жидкий из смеси растительного сырья		1,5 %	
	Мирамистин®	Бензилдиметил [3-(миристоиламино)пропил] аммоний хлорид моногидрат		0,001 %	
	Цельная кровь	–	Эндогенная субстанция	5 % v/v	Объем в образце в условиях «наихудшего случая»
	Муцин	Очищенный белок		5 % v/v	

Наличие возможного ингибирующего эффекта оценивалось путём проведения процедуры экстракции РНК с использованием набора из модельных образцов биологического материала, в которые добавлялись потенциальные интерференты в концентрациях согласно таблице 9 и стандартный образец предприятия, содержащий РНК вируса SARS-CoV-2 в концентрации 500 копий/мл. Далее с экстрагированными

образцами проводили ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» с использованием набора реагентов «Amplitech SARS-CoV-2 (R)».

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально интерферирующих веществ на эффективность экстракции РНК с использованием набора «РНК-100 (R)» отсутствует.

8 ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

8.1 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 1 (автоматическая методика с использованием автоматической станции «Amplitech E1»)

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1».

ВНИМАНИЕ! Для внесения в ячейки картриджа исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого образца.

8.1.1 Подготовка реагентов

8.1.1.1 Подготовить контрольные образцы (ВК, ПК, ОК), входящие в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР, согласно инструкции по его применению.

8.1.1.2 Проколоть защитную фольгированную плёнку необходимого количества ячеек картриджа в рядах А и/или Е с использованием специализированного перфоратора (входит в комплект поставки станции «Amplitech E1») для последующего внесения исследуемых и контрольных (ВК, ПК, ОК) образцов.

ВНИМАНИЕ! В картридже с ранее вскрытыми и использованными для экстракции ячейками необходимо заклеить данные ячейки клейкой плёнкой, входящей в состав набора, разрезав её по нанесённым линиям.

ВНИМАНИЕ! Исследуемые образцы, ВК и контроли (ОК, ПК) должны быть внесены в ячейки картриджа не позднее чем через два часа после вскрытия ячеек.

8.1.2 Внесение образцов и запуск протокола в работу

8.1.2.1 Внести во вскрытые (проколотые) ячейки картриджа рядов А/Е по 10 мкл ВК.

8.1.2.2 Добавить в ячейки с уже внесённым ВК исследуемые и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Каждый образец должен быть внесён в отдельную ячейку картриджа.

ВНИМАНИЕ! Во избежание получения невалидных результатов, не допускается внесение в ячейки картриджа исследуемых образцов, содержащих сгустки, слизь, твёрдые частицы и другие примеси, способные закупорить одноразовые наконечники автоматической станции.

ВНИМАНИЕ! После внесения исследуемых, контрольных образцов и ВК процедура экстракции на автоматической станции должна быть запущена в течение 20 мин.

8.1.2.3 Разместить на рабочем столе автоматической станции согласно руководству по её применению: картридж с внесёнными исследуемыми

образцами и контролями, необходимое количество одноразовых наконечников и пробирок, входящих в состав набора, а также используемые контейнеры для элюата.

8.1.2.4 Запустить выполнение протокола экстракции РНК согласно руководству по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1» с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «РНК-100 (R)».

Примечание – Объем элюции указать в протоколе в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

8.1.2.5 Надосадочная жидкость в контейнерах для элюата, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную РНК, которую можно использовать для постановки реакции ОТ или ОТ-ПЦР.

8.2 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 2 (автоматическая методика с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™)

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации процессора KingFisher™.

ВНИМАНИЕ! Для внесения в лунки планшета реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого реагента/образца.

8.2.1 Подготовка реагентов

8.2.1.1 Перемешать тщательно взбалтыванием Буферы В1, В2, В3(R).

8.2.1.2 Подготовить контрольные образцы (ВК, ПК, ОК), входящие в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР, согласно инструкции по его применению.

8.2.1.3 Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с Реагентом М на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования).

8.2.1.4 Внести всё содержимое пробирки с Реагентом М и 960 мкл ВК в Буфер В1.

8.2.1.5 Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь допускается хранить не более месяца при температуре от 2 °С до 8 °С.

8.2.2 Подготовка глубоколоночных планшетов

Перед проведением автоматической экстракции с использованием процессора KingFisher™ необходимо разнести реагенты, входящие в состав данного набора, по глубоколоночным планшетам, совместимым с прибором. Для этого необходимо выполнить порядок действий, указанный ниже.

8.2.2.1 Промаркировать 5 глубоколоночных планшетов: В1, В2, В3(R), Э, Гр.

8.2.2.2 В лунки планшета В1 внести по 500 мкл подготовленной смеси ВК, Реагента М и Буфера В1.

8.2.2.3 В лунки планшета В2 внести по 700 мкл Буфера В2.

8.2.2.4 В лунки планшета В3(R) внести по 800 мкл Буфера В3(R).

8.2.2.5 В лунки планшета Э внести требуемый объем Буфера В3(R).

Примечание – Требуемый объем Буфера В3(Р) (объем элюции) см. в инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Не допускается хранение планшета Э в открытом виде во избежание испарения Буфера В3(Р) и уменьшения объема реагента в ячейках.

8.2.2.6 В планшет Гр поместить насадку на магнитную голову KingFisher™.

8.2.3 Загрузка протокола экстракции

Для проведения экстракции РНК с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ необходимо использовать протокол экстракции «RNA100R-KF», расположенный по адресу: <http://www.amplitech.ru/resources/>. Загрузка протокола в программное обеспечение «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments»⁷ для работы с прибором KingFisher™ осуществляется согласно руководству по эксплуатации программного обеспечения.

8.2.4 Внесение образцов и запуск протокола в работу

8.2.4.1 Внести в ячейки подготовленного планшета В1 с реагентами исследуемые и контрольные (ПК, ОК) образцы в объеме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник.

8.2.4.2 Выбрать в программном обеспечении «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments» загруженный протокол «RNA100R-KF».

8.2.4.3 По запросу программного обеспечения прибора установить в него подготовленные планшеты В1, В2, В3(Р), Э, Гр. После установки планшетов запустить процедуру экстракции РНК.

Надосадочная жидкость в планшете Э, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную РНК, которую можно использовать для постановки реакции ОТ или ОТ-ПЦР.

8.3 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием магнитного штатива или центрифугирования)

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого реагента/образца.

8.3.1 Подготовка реагентов

8.3.1.1 Перемешать тщательно взбалтыванием Буферы В1, В2, В3(Р).

8.3.1.2 Подготовить контрольные образцы (ВК, ПК, ОК), входящие в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР, согласно инструкции по его применению.

8.3.1.3 Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с Реагентом М на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования).

8.3.1.4 Внести всё содержимое пробирки с Реагентом М и 960 мкл ВК в Буфер В1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь

⁷ Программное обеспечение поставляется с процессором магнитных частиц KingFisher™.

допускается хранить не более месяца при температуре от 2 °С до 8 °С.

8.3.2 Проведение экстракции РНК с использованием центрифугирования

8.3.2.1 Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (ПК, ОК) образцов.

8.3.2.2 Внести в каждую промаркированную пробирку по 500 мкл подготовленной смеси ВК, Реагента М и Буфера В1.

8.3.2.3 Внести в промаркированные пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.4 Поместить пробирки в термостат с температурой 70 °С на 10 мин.

8.3.2.5 Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.6 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.7 По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.

8.3.2.8 Добавить в пробирки по 700 мкл Буфера В2. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.9 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.10 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.7.

8.3.2.11 Добавить в пробирки по 800 мкл Буфера В3(R) и оставить на столе на 3 мин.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера В3(R) содержимое пробирок не перемешивать.

8.3.2.12 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.13 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.7.

8.3.2.14 Добавить в пробирки требуемый объем Буфера В3(R). Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

Примечание – Требуемый объем Буфера В3(R) (объем элюции) см. в инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

8.3.2.15 Поместить пробирки в термостат с температурой 70°С на 5 мин, перемешивая каждые 2 мин.

8.3.2.16 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.17 Надосадочную жидкость, содержащую очищенную РНК, можно использовать для постановки реакции ОТ или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение препарата РНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования препарат не был внесён в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

8.3.3 Проведение экстракции РНК с использованием магнитного штатива

8.3.3.1 Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (ПК, ОК) образцов.

8.3.3.2 Внести в каждую промаркированную пробирку по 500 мкл подготовленной

смеси ВК, Реагента М и Буфера В1.

8.3.3.3 Внести в промаркированные пробирки исследуемые и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.3.4 Поместить пробирки в термостат с температурой 70°C на 10 мин.

8.3.3.5 Перемешать содержимое пробирок и осалить капли на вортексе.

8.3.3.6 Поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин.

8.3.3.7 Без снятия пробирок со штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.

8.3.3.8 Добавить в пробирки по 700 мкл Буфера В2. Плотнo закрыть крышки

8.3.3.9 Перемешать содержимое пробирок, осадить капли на вортексе и поместить в магнитный штатив на 2 мин.

8.3.3.10 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.3.7.

8.3.3.11 Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в пробирки по 800 мкл Буфера В3(R) и подождать 3 мин.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера В3(R) содержимое пробирок не перемешивать.

8.3.3.12 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.3.7.

8.3.3.13 Добавить в пробирки требуемый объём Буфера В3(R). Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.

Примечание – Требуемый объём Буфера В3(R) (объём элюции) см. в инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

8.3.3.14 Поместить пробирки в термостат с температурой 70°C на 5 мин, перемешивая каждые 2 мин.

8.3.3.15 Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на 2 мин.

8.3.3.16 Надосадочную жидкость, содержащую очищенную РНК, можно использовать для постановки реакции ОТ или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной РНК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

8.4 Хранение очищенной РНК

Для хранения РНК необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку. Рекомендуется хранить очищенную РНК:

- при температуре от 2 °C до 8 °C не более 4 ч,
- при температуре от минус 24 °C до минус 16 °C не более недели,
- при температуре не выше минус 68 °C не более года.

9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

9.1 Контроли, используемые этапе экстракции РНК

Контроль этапа экстракции РНК осуществляется одновременно с оценкой достоверности результатов этапа ОТ-ПЦР согласно инструкции к набору реагентов для проведения ОТ-ПЦР. Результаты исследования контролей, проходящих экстракцию РНК вместе с исследуемыми образцами, должны соответствовать критериям оценки, указанным в инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

9.1.1 Отрицательный и положительный контроли

Каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы, если они предусмотрены для проведения исследования согласно инструкции к набору реагентов для проведения ОТ-ПЦР:

- ОК для выявления контаминации в процессе проведения исследования;
- ПК для контроля корректного прохождения исследования.

9.1.2 Внутренний контроль

Для контроля качества экстракции РНК и оценки влияния ингибиторов на результаты ОТ-ПЦР в исследовании используется экзогенный ВК^а, который добавляется на этапе экстракции в каждый исследуемый и контрольный образец. Отсутствие результатов амплификации для ВК и одновременно для выявляемой мишени свидетельствует о возможном присутствии ингибиторов ОТ-ПЦР в образце.

9.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Для выявления возможной контаминации лаборатории продуктами амплификации, исследуемыми и контрольными образцами рекомендуется раз в месяц исследовать смывы с рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений согласно процедуре, указанной в МУ 1.3.2569-09. При обнаружении контаминации необходимо провести мероприятия по её устранению согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Эффективность экстракции РНК SARS-CoV-2 для всех заявленных видов биологического материала составляет 100 % (98,9 % – 100 % с достоверностью 95 %)⁹. Указанное значение характеристики достигается при соблюдении требований, приведённых в разделе 7.

Набор обеспечивает экстракцию РНК с чистотой, достаточной для выявления методом ОТ-ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени» РНК SARS-CoV-2 в концентрации 500 копий/мл в 100 % случаев.

^а ВК, входящий в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

^⁹ На примере экстракции РНК SARS-CoV-2 в концентрации 500 копий/мл из биоматериала, помещённого в транспортную среду.

11 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты в пробирках и флаконах использовать до истечения срока годности набора. После вскрытия ячеек картриджа с реагентами экстракция с использованием вскрытых ячеек должна быть проведена в течение 140 мин (с учётом времени, затрачиваемого на внесение в ячейки исследуемых образцов и контролей).

11.2 Хранение

Набор хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в защищённом от солнечного света месте. Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия.

11.3 Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 25 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

11.4 Эксплуатация

Реагенты, входящие в состав набора, готовы к использованию.

Ячейки картриджа с реагентами предназначены для однократного использования.

Экстракция РНК с использованием набора должно проводиться при температуре от 18 °С до 25 °С и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

12 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применены следующие сокращения:

ВК	– внутренний контроль
ДНКаза	– дезоксирибонуклеаза
ОК	– отрицательный контроль
ОТ	– обратная транскрипция
ПК	– положительный контроль
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
РНКаза	– рибонуклеаза

13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия

ГОСТ Р 15.301-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Продукция производственно-технического назначения. Порядок разработки и постановки продукции на производство

ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции. Основные положения

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения

ГОСТ Р ИСО 23840-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования

14 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении условий его транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора направлять в адрес производителя: ООО «Амплитек», 109235, Москва, ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42, тел. (495) 374-13-46, e-mail: support@amplitech.ru.

15 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Консультацию по вопросам по работе с набором и его качеству можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: www.amplitech.ru.

16 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Изготовитель



Код серии



Дата изготовления



Использовать до



Медицинское изделие для диагностики *in vitro*



Не допускать воздействия солнечного света



Обратитесь к инструкции по применению



Предел температуры



Содержимого достаточно для проведения п тестов



Осторожно!



Номер по каталогу



Знаки опасности



ООО «Амплитек»,
Россия, 109235, Москва,
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42
тел. (495) 374-13-46, www.amplitech.ru

Лист регистрации изменений

[illegible]

Пронумеровано, скреплено и прошито

21
лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«Амплитек»

А.В. Ходяков



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 21 ЛИСТОВ

20 04 2022 год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавичус П.К.

