

«УТВЕРЖДАЮ»

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

« 23 »

ноября

2022 г.



ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК

из биологического материала

«АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо»



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



ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ.....	3
ПРИНЦИП МЕТОДА	4
СОСТАВ И КОМПЛЕКТНОСТЬ.....	5
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	5
Интерферирующие вещества и ограничения по использованию проб исследуемого материала.....	6
ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ	9
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ	11
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ.....	14
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	17
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ РНК/ДНК.....	19
ЭКСТРАКЦИЯ РНК/ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	20
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.....	25
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	26
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ.....	27

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО	- внутренний контрольный образец
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	- нуклеиновая кислота (ДНК/РНК)
ОКО	- отрицательный контрольный образец
ОТ-ПЦР	- обратная транскрипция и ПЦР-амплификация
ПКО	- положительный контроль экстракции РНК/ДНК
ПИБ	- потенциально interfering вещества
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РУ	- регистрационное удостоверение
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-Комбо», далее – комплект реагентов «АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо», предназначен для экстракции (выделения) тотальной РНК/ДНК из биологического материала человека (мазков со слизистой носо- и ротоглотки, мокроты, плазмы крови, фекалий, мочи) в целях исследования полученных образцов методом амплификации нуклеиновых кислот.

Функциональное назначение – вспомогательное средство в диагностике.

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.

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Клиническая лабораторная диагностика.

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

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, мокроты, плазмы крови, фекалий, мочи) 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

К работе с комплектом реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-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»).

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 сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются при осаждении сорбента с помощью магнитной силы и последующих отмывок.

При последующем добавлении к магнитному сорбенту элюирующего буфера происходит переход НК в раствор с поверхности сорбента, который затем отделяется от раствора магнитной силой.

СОСТАВ И КОМПЛЕКТНОСТЬ

Комплект реагентов выпускается в одном варианте исполнения.

Состав:

Таблица 1 - «АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо» вариант 100 - комплект реагентов для экстракции РНК/ДНК из биологического материала – включает:

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий буфер Комбо	Прозрачная жидкость от бесцветного до серо-голубого цвета ¹	50	1 флакон
Буфер GT	Прозрачная бесцветная жидкость	1	1 пробирка
Магнитный сорбент	Суспензия коричневого цвета	1	2 пробирки
Раствор для отмывки Комбо-1	Прозрачная бесцветная жидкость	70	1 флакон
Раствор для отмывки Комбо-2	Прозрачная бесцветная жидкость	50	1 флакон
Элюирующий буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	10	1 флакон

Комплект реагентов рассчитан на выделение РНК/ДНК из 100 образцов, включая контроли.

Комплектность:

- Комплект реагентов «АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо»;
- Инструкция по применению;
- Паспорт качества.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Для данного комплекта реагентов применимы следующие характеристики:

Эффективность экстракции не менее 50 %.

Эффективность экстракции РНК оценивали как соотношение концентраций РНК SARS-CoV-2 в образцах, содержащих инактивированный штамм «ГК2020/1» коронавируса SARS-

¹ При хранении при температуре от 2 до 8°C возможно образование осадка в виде кристаллов.

CoV-2 с концентрацией 3×10^4 копий/мл, прошедших экстракцию испытуемым комплектом реагентов, и исходной концентрации (до экстракции) РНК SARS-CoV-2 препарата штамма 3×10^4 копий/мл в указанных образцах*.

Эффективность экстракции ДНК оценивали как соотношение концентраций ДНК в образцах, содержащих штамм *Staphylococcus aureus subsp. aureus* «АТСС 6538» в концентрации 2×10^3 копий/мл, прошедших экстракцию испытуемым комплектом реагентов, и исходной концентрации ДНК препарата штамма 2×10^3 копий/мл в указанных образцах**.

Примечания:

* 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).

** При анализе совместно с набором реагентов «АмплиСенс® MRSA-скрин-титр-FL»²

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

² Набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК метициллин-чувствительного и метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus*, метициллин-резистентных коагулазонегативных *Staphylococcus* spp. в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® MRSA-скрин-титр-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ (Р.У. № ФСР 2012/13998).

ходе реакции амплификации наличие сигнала, свидетельствующего о накоплении фрагментов НК 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 выбрали эндогенные (муцин, гемоглобин, билирубин, триглицериды, альбумин, креатинин, мочеви́на, моче́вая кислота) и экзогенные (лидокаин, дексаметазон, тобрамицин, гепарин, диклофенак натрия) вещества, которые могут присутствовать в биологическом материале (мазках со слизистой носо- и ротоглотки, мокроте, фекалиях, плазме крови, моче), используемом для исследования.

Для изучения влияния потенциально интерферирующих веществ (ПИВ) на результаты анализа нуклеиновых кислот после экстракции комплектом реагентов «АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо» с применением наборов реагентов «АмплиСенс® MRSA-скрин-титр-FL»², «АмплиСенс® HBV-FL»³, «АмплиСенс® ОКИ-скрин-FL»⁴, «АмплиСенс® HCV-FL»⁵, «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL»⁶, «АмплиСенс® Cov-Bat-FL»⁷, используются

³ Набор реагентов для выявления ДНК вируса гепатита В (HBV) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® HBV-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия (РУ № ФСР 2007/00585).

⁴ Набор реагентов для выявления и дифференциации ДНК (РНК) микроорганизмов рода Шигелла (*Shigella* spp.) и энтероинвазивных *E. coli* (EIEC), Сальмонелла (*Salmonella* spp.) и термофильных Кампилобактерий (*Campylobacter* spp.), аденовирусов группы F (*Adenovirus* F) и ротавирусов группы А (*Rotavirus* A), норовирусов 2 генотипа (*Norovirus* 2 генотип) и астровирусов (*Astrovirus*) в объектах окружающей среды и клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ОКИ-скрин-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия (РУ № ФСР 2008/02265).

⁵ Набор реагентов для выявления РНК вируса гепатита С (HCV) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® HCV-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия (РУ № ФСР 2011/10235).

⁶ Набор реагентов для выявления возбудителей острых респираторных вирусных инфекций человека (ОРВИ): РНК респираторно-синцитиального вируса (*human Respiratory Syncytial virus* –hRSv), метапневмовируса (*human Metapneumovirus* –hMpv), вирусов парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов (*human Parainfluenza virus* –1-4-hPiv), коронавирусов (*human Coronavirus* –hCov), риновирусов (*human Rhinovirus* –hRv), ДНК аденовирусов групп В, С и Е (*human Adenovirus* В, С, Е –hAdv) ибокавируса (*human Bocavirus* –hBov) в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL» (РУ № ФСР 2011/11258).

⁷ Набор реагентов для выявления РНК коронавирусов, вызывающих тяжелую респираторную инфекцию: MERS-Cov (*Middle East respiratory syndrome coronavirus*) и SARS-Cov (*Severe acute respiratory syndrome coronavirus*), в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® Cov-Bat-FL» по ТУ 9398-224-01897593-2013 производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия (РУ № РЗН 2014/1987).

образцы мазков со слизистой носо- и ротоглотки, мокроты, содержащие РНК коронавируса SARS-CoV-2 и ДНК аденовирусов групп В, С и Е, образцы плазмы крови, содержащие РНК гепатита С и ДНК гепатита В, образцы фекалий, содержащие РНК норовируса 2 типа и ДНК *Campylobacter* spp, образцы мочи, содержащие ДНК *Staphylococcus aureus* с последующим добавлением эндогенных ПИВ, экзогенных ПИВ и без добавления данных веществ (контрольные образцы):

Вычисляется разница полученных средних значений C_t ($\Delta C_{t_{cp}}$) для образцов, содержащих и не содержащих ПИВ. При значении $\Delta C_{t_{cp}}$ менее 1,5 циклов делали вывод об отсутствии влияния потенциально интерферирующих веществ на результат анализа.

Результаты тестирования представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Потенциально интерферирующие вещества

Клинический материал	Вид ПИВ	ПИВ	Протестированная концентрация в образце	Наличие интерференции
Мазки, мокрота	Эндогенные вещества	Муцин	2 мг/дл	Не обнаружена
		Гемоглобин	5 мг/мл	Не обнаружена
	Экзогенные вещества	Лидокаин	51,2 ммоль/л	Не обнаружена
		Дексаметазон	1,53 ммоль/л	Не обнаружена
		Тобрамицин	51,4 ммоль/л	Не обнаружена
Фекалии*	Эндогенные вещества	Муцин	2 мг/дл	Не обнаружена
		Гемоглобин	5 мг/мл	Не обнаружена
	Экзогенные вещества	Лидокаин	51,2 ммоль/л	Не обнаружена
		Диклофенак натрия	169 мкмоль/л	Не обнаружена
Плазма крови	Эндогенные вещества	Гемоглобин	5 мг/мл	Не обнаружена
		Билирубин	20 мг/дл	Не обнаружена
		Триглицериды	500 мг/дл	Не обнаружена
		Альбумин	50 мг/мл	Не обнаружена

Клинический материал	Вид ПИВ	ПИВ	Протестированная концентрация в образце	Наличие интерференции
	Экзогенные вещества	Гепарин	3000 Ед/л	Не обнаружена
Моча*	Эндогенные вещества	Креатинин	5 мг/дл	Не обнаружена
		Мочевина	4,8 г/дл	Не обнаружена
		Альбумин	5 мг/дл	Не обнаружена
		Мочевая кислота	9 мг/дл	Не обнаружена
	Экзогенные вещества	Тобрамицин	51,4 ммоль/л	Не обнаружена
		Лидокаин	51,2 ммоль/л	Не обнаружена

*Примечание: образцы после соответствующей предварительной обработки

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ

Воспроизводимость исследования определяется при использовании двух серий комплекта реагентов, двумя операторами, в разные дни. Анализ проводится совместно с набором реагентов «АмплиСенс® MRSA-скрин-титр-FL»² или с помощью 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).

Материалами для оценки служат образцы разведения инаktivированного штамма «ГК2020/1» коронавируса SARS-CoV-2 с концентрацией 3×10^4 копий/мл и образцы штамма *Staphylococcus aureus subsp. aureus* «ATCC 6538» с концентрацией 2×10^3 копий/мл.

Воспроизводимость полученных результатов, определенная с помощью однофакторного дисперсионного анализа, подтверждена отсутствием различий между средними значениями выборок с вероятностью 95 % (значение F-критерия ниже F критического, значение $P \geq 0.05$)

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 экстракции (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.

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИСПЫТУЕМОГО ИЗДЕЛИЯ И ИЗДЕЛИЯ СРАВНЕНИЯ

Был проведен анализ соответствия результатов тестирования методом анализа нуклеиновых кислот проб РНК/ДНК, выделенных из образцов биологического материала с помощью испытываемого комплекта реагентов «АмплиТест® МагноСорб-Комбо» и набора сравнения - Набора реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического материала «МагноПрайм ЮНИ», производства ООО «НекстБио», РФ, РУ № РЗН 2019/8955. Исследование проводили совместно с Наборами

реагентов «АмплиСенс® MRSA-скрин-титр-FL»², «АмплиСенс® HBV-FL»³, «АмплиСенс® ОКИ-скрин-FL»⁴, «АмплиСенс® HCV-FL»⁵, «АмплиСенс® ОРВИ-скрин-FL»⁶, «АмплиСенс® Cov-Bat-FL»⁷.

Для сравнительного исследования использовали образцы клинического материала: образцы мазков со слизистой носоглотки и образцы мокроты, содержащие и не содержащие РНК коронавируса SARS-CoV-2 и ДНК аденовирусов групп В, С и Е, образцы плазмы крови, содержащие и не содержащие РНК гепатита С и ДНК гепатита В, образцы фекалий, содержащие и не содержащие РНК норовируса 2 типа и ДНК *Campylobacter* spp., образцы мочи, содержащие и не содержащие ДНК *Staphylococcus aureus*, всего 450 клинических образцов.

Результаты выявления РНК и ДНК возбудителей инфекционных заболеваний наборами реагентов для анализа нуклеиновых кислот совпали при экстракции НК комплектом реагентов «АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо» и набором сравнения для всех 450 исследованных образцов биологического материала, дискордантных образцов выявлено не было.

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 клинико-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. Среда для хранения и транспортировки респираторных мазков «АмплиТест® ТСП» (РУ № РЗН 2022/16719, производства ФГБУ «ЦСП» ФМБА России) или аналогичная.
2. Зонд-тампон для отбора, транспортировки и хранения биологических проб (например, DELTALAB S.L.U. («ДЕЛЬТА-ЛАБ С.Л.У.»), Испания или аналогичный).
3. Контейнер пластиковый для взятия, хранения и транспортировки биологических образцов объемом 50-60 мл, стерильный (например, ООО «Комбитек Пластик» или аналогичный).
4. Пробирки вакуумные для гематологии с 3 % раствором ЭДТА (например, ApexLab, Россия, или аналогичные).
5. 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. Реагент для предобработки слизистого материала «МУКО-ЛИЗИН» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия, РУ № ФСР 2011/12082).
2. 0,9 % раствор натрия хлорида (стерильный физиологический раствор) или фосфатный буферный раствор (PBS) (натрия хлорид, 137 мМ; калия хлорид, 2,7 мМ; натрия монофосфат, 10 мМ; калия дифосфат, 2 мМ; pH=7,5±0,2).
3. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся или завинчивающиеся пробирки с крышками объемом 1,5 - 2,0 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100, до 200, до 1000 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
5. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).

6. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
7. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
8. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс g (например, Eppendorf Manufacturing Corporation («Эппендорф Мануфэктуринг Корпорэйшн»), Германия, или аналогичная).
9. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
10. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
11. 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, система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологических образцов человека AutoPure 96 («Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd.», Китай), РУ № РЗН 2021/14263, или процессор магнитных частиц KingFisher Flex 96 («Thermo Fisher Scientific», США), Р.У. № ФСЗ 2009/05562), зарегистрированная в РФ и удовлетворяющая следующим требованиям:⁸
 - 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).⁹
4. Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).

⁸ Только для автоматической экстракции.

⁹ Только для ручной экстракции.

5. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1», г. Ульяновск, Россия).²
6. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5-2,0 мл (например, «Promega», США).²
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 °C с морозильной камерой не выше минус 16 °C.
14. Отдельный халат и одноразовые перчатки.
15. Емкость с дезинфицирующим раствором.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Мазки со слизистой носоглотки и ротоглотки рекомендуются 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. Про-

бирку 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.

Мокрота

Мокроту собирают в стерильные герметичные одноразовые пластиковые контейнеры после предварительного полоскания полости рта водой. Допускается хранение до проведения исследования в течение 1 сут при температуре от 2 до 8 °С, при температуре от минус 24 до минус 16 °С – длительно.

Фекалии

Образцы забирают в стерильный горшок или подкладное судно. Затем в количестве 1 г (примерно) переносят в одноразовую герметичную емкость из полипропилена. Допускается хранение до проведения исследования в течение 1 сут при температуре от 2 до 8 °С, при температуре от минус 24 до минус 16 °С – длительно. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

Плазма крови

Взятие крови проводится утром натощак в пробирку с 3 % раствором ЭДТА из расчета 1:20. Пробирку с кровью центрифугируют 20 мин при 800-1600 g и переносят плазму в новую пробирку. Отобрать плазму следует не позднее 6 ч с момента взятия крови.

Моча

У женщин отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15–25 мл в специальную емкость из полипропилена для сбора биологического материала, с завинчивающейся или плотно защелкивающейся крышкой. Сбор мочи провести после тщательного туалета наружных половых органов. Желательно закладывать тампон во влагалище перед сбором материала для предупреждения контаминации мочи отделяемым из влагалища. Также не следует производить сбор мочи во время менструации.

У мужчин при сборе материала необходимо освободить наружное отверстие мочеиспускательного канала, полностью

оттянув кожную складку. Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15–25 мл в специальную емкость из полипропилена для сбора биологического материала, с завинчивающейся или плотно защелкивающейся крышкой.

В случае если сбор мочи осуществляется в емкость без реагентов для консервации и стабилизации, допускается хранение и транспортирование образцов мочи до проведения предобработки:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

При осуществлении сбора мочи в емкость с транспортной средой или реагентами для консервации и стабилизации, хранение образцов мочи до проведения предобработки проводить согласно инструкции к используемой емкости для сбора.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

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.

Мокрота

Вязкая по консистенции мокрота подлежит обработке реагентом «МУКОЛИЗИН». С целью снижения вязкости в емкость с мокротой добавляется реагент «МУКОЛИЗИН» в соотношении объемов 2:1 (ориентируясь по градуировке емкости). При необходимости увеличивают объем реагент «МУКОЛИЗИН» до соотношения 5:1. После инкубации при комнатной температуре до просветления мокроты (не более 20 минут) мокроту используют для экстракции НК. При необходимости повторного проведения остаток мокроты замораживают.

Фекалии

В микроцентрифужную пробирку (объемом 1,5 мл) вносят 0,9 мл фосфатного буфера (или стерильного физиологического раствора). В каждую пробирку отдельным наконечником с фильтром (или одноразовыми лопатками) вносят 0,1 г (0,1 мл) фекалий и тщательно ресуспендируют на вортексе до образования гомогенной суспензии (10 %). Взвесь фекалий интенсивно встряхивают на вортексе до образования суспензии.

Центрифугируют суспензии фекалий 5 мин при 7000 g (10 тыс об/мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf). Супернатант (осветленный экстракт фекалий) используют для экстракции НК.

Плазма крови

Использовать без предварительной обработки. Хранить плазму можно не более 3 сут при температуре от 2 до 8 °C и длительно – при температуре не выше минус 68 °C.

Моча

Флакон с мочой взболтать. Перенести 1 мл мочи, используя наконечник с фильтром, в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. Центрифугировать 5 мин при 10 000 g. При наличии большого количества солей ресуспендировать осадок солей в объеме 1 мл физиологического раствора стерильного или транспортной среды и затем снова концентрировать. Используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, полностью удалить супернатант, используя для каждого образца отдельный наконечник без фильтра, не захватывая осадок. К осадку добавить 200 мкл физиологического раствора стерильного или транспортную среду в объеме, указанном в инструкции по ее применению. Тщательно перемешать содержимое на вортексе.

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».

Методика ручной экстракции с использованием магнитного штатива

1. **Лизирующий буфер Комбо** (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 мкл¹⁰** подготовленной смеси ВКО, буфера GT и магнитного сорбента.
5. Добавить в пробирки **500 мкл Лизирующего буфера Комбо**.
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 ОКО** (если он предусмотрен в комплектации набора для амплификации нуклеиновых кислот). В пробирку положительного контроля (ПК) выделения внести **ПКО** (не более 100 мкл), если он предусмотрен для проведения тестирования в комплектации набора для амплификации нуклеиновых кислот.
8. Содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе.
9. Прогреть пробирки **5 мин при 60°С** в термостате.
10. Кратким центрифугированием осадить капли и перенести пробирки в магнитный штатив на **1 мин**.

¹⁰ Если ВКО не предусмотрен для проведения тестирования, внести в пробирки по 30 мкл подготовленной смеси буфера GT и магнитного сорбента.

Примечание. Необходимо открыть крышки до постановки в магнитный штатив, если в магнитном штативе их неудобно/невозможно открыть без взмучивания сорбента.

11. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, 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 700 мкл раствора для отмывки Комбо-1, закрыть крышки.

Примечание. Необходимо поставить пробирки в обычный штатив, если в магнитном штативе неудобно/невозможно плотно закрыть крышки.

13. Ресуспендировать магнетизированную силику перемешиванием на вортексе, кратким центрифугированием осадить капли и перенести пробирки в магнитный штатив на 1 мин.
14. Открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость как описано выше.
15. Добавить в пробирки по 500 мкл раствора для отмывки Комбо-2, перемешать на вортексе, а затем осадить капли кратким центрифугированием.
16. Поместить пробирки в магнитный штатив на 1 мин, затем открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость.
17. Высушить магнетизированную силику, оставив пробирки с открытыми крышками на магнитном штативе в течение 5-10 минут.
18. Добавить в пробирки по 100 мкл Элюирующего буфера и перемешать на вортексе.
19. Поместить пробирки в термостат при температуре 60 °C на 5 мин, через 2 мин перемешать на вортексе.
20. Кратко осадить капли на вортексе и переставить пробирки в магнитный штатив. Инкубировать 2 мин.
21. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.
22. 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.

Методика автоматической экстракции

ВНИМАНИЕ! К работе с автоматической станцией может быть допущен только персонал, прошедший обучение. Программирование последовательности действий, указанной ниже, осуществляется с использованием инструкции к конкретному виду станции.

1. **Лизирующий буфер Комбо** (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 мкл¹² 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 Комбо**.
5. Добавить в пробирки или лунки глубоколоночного планшета со смесью ВКО, буфера GT, магнитного сорбента и Лизирующего буфера Комбо 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 **ПКО** (не более 100 мкл), если он предусмотрен для проведения тестирования в комплектации набора для амплификации нуклеиновых кислот.

¹² Если ВКО не предусмотрен для проведения тестирования, внести в пробирки или лунки глубоколоночного планшета по 30 мкл подготовленной смеси буфера GT и магнитного сорбента.

7. Для станций с магнитным штативом поместить на борт автоматической станции емкости с Раствором для отмывки Комбо-1, Раствором для отмывки Комбо-2 и Элюирующим буфером. Для станций с магнитными стержнями внести в лунки соответствующих глубоколоночных планшетов, размещаемых на автоматической станции, по 700 мкл Раствора для отмывки Комбо-1, 500 мкл Раствора для отмывки Комбо-2 и по 100 мкл Элюирующего буфера.
8. Установить пробирки или планшет с исследуемыми и контрольными образцами, полученными в соответствии с пунктами 5 и 6, на борт автоматической станции.
9. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми и контрольными образцами при 60°C в течении 5 мин.
10. Для станций с магнитным штативом поместить пробирки с исследуемыми и контрольными образцами в магнитный штатив на 1 мин. Для станций с магнитными стержнями опустить в лунки планшета с исследуемыми образцами магнитные стержни на 1 мин.
11. Для станций с магнитным штативом удалить надсадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в каждую пробирку с исследуемыми образцами по 700 мкл Раствора для отмывки Комбо-1. Для станций с магнитными стержнями перенести магнитные стержни с намагниченным сорбентом в лунки планшета с раствором для отмывки Комбо-1.
12. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами.
13. Повторить пункт 10.
14. Для станций с магнитным штативом удалить надсадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в каждую пробирку с исследуемыми образцами по 500 мкл Раствора для отмывки Комбо-2. Для станций с магнитными стержнями перенести магнитные стержни с намагниченным сорбентом в лунки планшета с раствором для отмывки Комбо-2.
15. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами.
16. Повторить пункт 10.

17. Для станций с магнитным штативом высушить магнетизированную силику, оставив открытые пробирки на магнитном штативе в течение 5 минут. Для станций с магнитными стержнями высушить магнетизированную силику оставив магнитные стержни с намагниченным сорбентом на открытом воздухе в течение 5 минут.
18. Для станций с магнитным штативом добавить в пробирки по 100 мкл Элюирующего буфера. Для станций с магнитными стержнями поместить магнитные стержни в лунки планшета с элюирующим буфером.
19. Перемешивать содержимое пробирок или лунок планшета с исследуемыми образцами при 60°C в течении 5 мин.
20. Для станций с магнитным штативом перенести раствор в чистые пробирки, не вынимая пробирки с магнитным сорбентом из магнитного штатива. Для станций с магнитными стержнями удалить магнитный сорбент из лунок планшета с помощью магнитных стержней.
21. 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-Комбо» 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 регулируемую 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 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



Знаки опасности

Пронумеровано, прошнуровано и скреплено
печатью 24 лист 06

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

Г.А. Шипулин

