



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ООО НПФ «Литех»

А.Ю. Наумов

12 2022 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению медицинского изделия для диагностики in vitro
«Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот
из биологического материала

НК-магнит»

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов **НК-магнит** предназначен для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из образцов биологического материала человека (биологические жидкости: отделяемое слизистых оболочек, секрет предстательной железы, моча, мокрота, плевральная жидкость, сперма, цельная кровь, лейкоциты крови, сыворотка или плазма, отделяемое из ран, ликвор, синовиальная жидкость, слюна, экссудат; кал; смывы, мазки и соскобы с оболочек органов и тканей, сухие пятна крови), а также смывов с поверхностей и образцов культур микроорганизмов (в том числе гемокультуры) для последующего анализа полученных препаратов НК методами молекулярной диагностики с целью диагностики наследственных особенностей организма человека, патологий или инфекционных заболеваний, предполагающей анализ последовательности НК.

Функциональное назначение – Набор **НК-магнит** представляет собой реагенты для этапа пробоподготовки образцов с целью последующего анализа нуклеиновых кислот (НК) и является вспомогательным средством на аналитическом этапе клинических лабораторных исследований по установлению этиологии заболеваний, наследственных особенностей организма или патологий, мониторинга течения болезни и факторов риска патологий, а также проведения санитарно-эпидемиологического контроля.

Набор может быть использован в ручном режиме с применением магнитного штатива или с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот (KingFisher Flex, РУ № ФСЗ 2009/05562; Auto-Pure 96, РУ № РЗН 2021/14263).

Набор предназначен для обследования всех групп населения любого возраста без градации по демографическому или популяционному признаку.

Полученные результаты не являются основанием для постановки диагноза, а используются только в сочетании с другими лабораторными показателями и диагностической информацией.

2. ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА – клиническая лабораторная диагностика.

Показания к применению. Набор реагентов **НК-магнит** может быть использован в клинической лабораторной диагностике на этапе пробоподготовки для выделения ДНК и РНК из клинических образцов с целью последующего анализа методами молекулярной диагностики.

3. **ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ПОЛЬЗОВАТЕЛЬ НАБОРА** - сотрудники клинко-диагностических лабораторий, прошедшие соответствующую профессиональную подготовку в области ДНК-диагностики.

4. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

4.1. Состав набора

Набор **НК-магнит** рассчитан на проведение экстракции 32 и 96 образцов и выпускается в 4 вариантах исполнения, предназначенных для разных видов биологического материала.

Варианты исполнения «Base» содержат реагенты, предназначенные для экстракции нуклеиновых кислот (НК) из всех видов биологических образцов организма и входит неизменным в состав всех вариантов исполнения набора НК-магнит.

Варианты исполнения «Spots» дополнены вспомогательным комплектом, который предназначен для предварительной обработки сухих пятен крови с целью более полной экстракции НК (табл. 1).

Таблица 1

№	Вариант исполнения	Состав	Варианты фасовки
1.	«Base 32»	1. Раствор L2 2. Раствор N 3. Раствор W1 4. Раствор W2 5. Раствор E 6. Сорбент 7. ЭВК*	1 флакон – 18 мл 1 пробирка – 0,5 мл 1 флакон – 35 мл 1 флакон – 18 мл 1 флакон – 7 мл 1 пробирка – 0,5 мл 1 пробирка – 200 мкл
2.	«Base 96»	1. Раствор L2 2. Раствор N 3. Раствор W1 4. Раствор W2 5. Раствор E 6. Сорбент 7. ЭВК*	1 флакон – 50 мл 1 пробирка – 1,3 мл 1 флакон – 110 мл 1 флакон – 50 мл 1 флакон – 20 мл 1 пробирка – 1,3 мл 1 пробирка – 500 мкл
3.	«Spots 32»	НК-магнит. Вариант исполнения «Base 32» 1. Раствор L2 2. Раствор N 3. Раствор W1 4. Раствор W2 5. Раствор E 6. Сорбент 7. ЭВК* Комплект для предобработки сухих пятен крови 1. Раствор DB	1 шт. 1 флакон – 18 мл 1 пробирка – 0,5 мл 1 флакон – 35 мл 1 флакон – 18 мл 1 флакон – 7 мл 1 пробирка – 0,5 мл 1 пробирка – 200 мкл 1 шт. 1 флакон – 7 мл
4.	«Spots 96»	НК-магнит. Вариант исполнения «Base 96» 1. Раствор L2 2. Раствор N 3. Раствор W1 4. Раствор W2 5. Раствор E 6. Сорбент 7. ЭВК* Комплект для предобработки сухих пятен крови 1. Раствор DB	1 шт. 1 флакон – 50 мл 1 пробирка – 1,3 мл 1 флакон – 110 мл 1 флакон – 50 мл 1 флакон – 20 мл 1 пробирка – 1,3 мл 1 пробирка – 500 мкл 1 шт. 1 флакон – 22 мл

*ЭВК – экзогенный внутренний контроль, предназначен для добавления в клинические образцы, обесцененные генетическим материалом человека, для контроля выделения пробы и прохождения ПЦР при использовании наборов производства ООО НПФ «Литех».

В состав набора входят готовые к применению реагенты.

Раствор L2 представляет собой многокомпонентный раствор, обеспечивающий лизис компонентов клеток и вирусных частиц, а также сорбцию высвободившейся НК на сорбент. **Содержит тиоцианат и гидрохлорид гуанидина и ЛВЖ!**

Раствор N представляет собой вспомогательный реагент для проведения лизиса.

Растворы W1 и W2 - буферы для отмычки сорбента. **Содержат ЛВЖ!**

Раствор E – буфер для проведения элюции НК.

Сорбент представляет собой покрытые силикой магнитные частицы.

Раствор DB - реагент для предварительной экстракции сухих пятен крови.

4.2. Комплектность

В комплект поставки входят:

- набор реагентов;
- памятка по применению набора.

Паспорт предоставляется по запросу пользователя.

Полная инструкция по применению представлена на сайте производителя www.lytech.ru (ГОСТ 51088). На бумажном носителе инструкция предоставляется по запросу пользователя.

4.3. Принцип метода

Принцип действия набора **НК-магнит** состоит в обработке клинической пробы лизирующим раствором в присутствии сорбента. В результате происходит разрушение вирусных частиц, клеточных оболочек и различных внутриклеточных комплексов и высвобождение НК. «Свободная» НК далее связывается с частицами сорбента, в то время как прочие компоненты удаляются посредством отмывки. На стадии элюции происходит десорбция НК с сорбента. В результате получается очищенный препарат НК, свободный от ингибиторов реакции амплификации и обратной транскрипции, который может быть использован для дальнейшего анализа.

4.4. Ограничения метода и интерферирующие вещества

Выделение генетического материала из клинических образцов осуществляется посредством сорбции НК на пористом силикатном носителе. Поэтому избыточное присутствие в образце примесных веществ, способных взаимодействовать с сорбентом (жиры (липопротеины), компоненты крови), может приводить к уменьшению удельной сорбционной поверхности, тем самым снижая эффективность выделения НК на порядок.

Производителем было показано сохранение эффективности выделения НК в диапазоне 80-100% в случае присутствия в клинических образцах, соответствующих потенциальных интерферирующих веществ в концентрациях, соответствующих верхней границе физиологической нормы, и превышающих их в несколько раз.

Таблица 2

образец	интерферент	допустимое содержание в образце
отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта	кровь	10 %
	слизь	20 %
	гной	25%
	жиры	30%
буккальный соскоб	кровь	10 %
отделяемое носоглотки и конъюнктивы	кровь	10 %
моча	гемоглобин	7,5 мг/л
секрет предстательной железы	кровь	10 %
ликвор	кровь	10 %
слюна	кровь	10 %
экссудат	белок	80 г/л
синовиальная жидкость	кровь	10 %
сперма	кровь	10 %
мокрота и плевральная жидкость	кровь	30 %
сыворотка и плазма крови, цельная кровь, сухие пятна крови	гемоглобин	3 г/л (сыворотка и плазма)
	К2-ЭДТА	1,8 мг/мл
	цитрат натрия	0,129 моль/л
	жиры	50 %
	билирубин	20,5 мкмоль/л
	холестерин	5 ммоль/л
	триглицериды	2,25 ммоль/л
	миоглобин	160 нг/мл
смывы и отделяемое ран	кровь	20 %
	гной	25 %
кал	полисахариды	25 %
	желчные кислоты	100 мг/г
	жир	50 %
	слизь	20 %

культуры микроорганизмов (в том числе гемокультуры)	кровь	10 %
--	-------	------

Следует отметить, что снижение эффективности выделения НК наблюдалось в ряде случаев для образцов с содержанием примеси жиров (липопротеинов) 60%. Для клинических образцов подобное содержание примеси жиров встречается крайне редко и свидетельствует о неправильном заборе материала, в том числе по причине критического состояния пациента, несоблюдении рекомендаций по сдаче анализа (в частности, диеты). Такие образцы должны быть отбракованы на преаналитическом этапе анализа и не подвергаться дальнейшему исследованию.

5. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

5.1. Эффективность выделения

Эффективность выделения НК из клинических образцов с помощью набора **НК-магнит** составляет 80-100%.

5.2. Качество (чистота) препарата экстрагированной НК

Набор **НК-магнит** позволяет получить препарат НК хорошего качества очистки (чистоты), достаточного для последующего проведения исследований методами молекулярной диагностики (в том числе ПЦР, ОТ-ПЦР, изотермической амплификации с обратной транскрипцией, секвенированием).

6. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Корреляция результатов клинических испытаний, проведенных на НК, выделенных из 510 образцов биологического материала, включая 450 клинических образцов (отделяемое слизистых оболочек, секрет предстательной железы, моча, мокрота, плевральная жидкость, сперма, цельная кровь, лейкоциты крови, сыворотка или плазма, отделяемое из ран, ликвор, синовиальная жидкость, слюна, экссудат; кал; смывы, мазки и соскобы с оболочек органов и тканей, сухие пятна крови), и 60 образцов смывов с поверхностей и образцов культур микроорганизмов (в том числе гемокультуры), наборами реагентов сравнения «НК-сорбент», «ПРОБА-НК/ПРОБА-НК-ПЛЮС», «РИБО-сорб», «ПРОБА-ЦИТО СП» и исследуемым набором реагентов **«НК-магнит»**, является высокой, что свидетельствует о получении в результате экстракции набором НК-магнит нуклеиновых кислот надлежащего качества и очистки (отсутствие ингибиторов ПЦР, ОТ-ПЦР, изотермической амплификации с обратной транскрипцией) для молекулярной диагностики и сопоставимости эффективности выделения ДНК и РНК из образцов клинического и биологического материала при использовании сравниваемых медицинских изделий.

7. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 2a

7.1. Требования безопасности при работе с набором

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и методических указаний 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 всегда следует выполнять следующие требования:

- Следует 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 или реактивы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические

требования по профилактике инфекционных болезней».

- При работе с Раствором L2 следует выполнять следующие требования: избегать прямого контакта реагентов с глазами, кожей и одеждой. Реагент может вызывать раздражение глаз, кожи и слизистых оболочек; в случае контакта с реагентом, немедленно промыть кожу большим количеством воды; при контакте реагента с глазами промыть большим количеством воды и немедленно обратиться за медицинской помощью; если реагент случайно проглочен, немедленно вызвать врача!
- При работе с Растворами L2, W1 и W2 строго соблюдать правила противопожарной безопасности.
- Применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции.
- Допускать к работе с набором только специально обученный персонал с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедшим подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами III-IV групп патогенности и получившим дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики.
- Не использовать набор по истечении срока годности.

7.2. Требования охраны окружающей среды

7.2.1. Набор реагентов не содержит веществ и материалов, требующих обеспечения специальных мер безопасности, и не представляет опасности для людей в течение всего срока годности. В том числе в случае отклонений в функционировании медицинского изделия, включая определяемые по внешним признакам.

7.2.2. Набор реагентов не требует специальных мер безопасности при воздействии таких предсказуемых факторов, как внешние электромагнитные поля, электростатические разряды, излучение (электромагнитное, ионизирующее, иное), атмосферное давление и его перепады, влажность и температура воздуха.

7.2.3. Набор реагентов не требует специальных мер безопасности относительно риска электромагнитных помех, поскольку в состав набора не входят и в результате применения не появляются какие-либо источники излучения.

7.2.4. Все компоненты набора нетоксичны для человека в используемых концентрациях. Реагенты, входящие в состав набора, безопасны для окружающей среды, не содержат цианид и азид натрия, а также другие вредные вещества.

7.2.5. Набор реагентов не содержит: лекарственных средств для медицинского применения, материалов животного и (или) человеческого происхождения, материалов, которые являются канцерогенными, мутагенными или токсичными, возможное выделение или вымывание которых приводит к сенсибилизации, аллергической реакции или отрицательно влияет на репродуктивную функцию.

8. ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

Для всех вариантов исполнения набора

- ламинарный бокс 2-го класса защиты;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками с переменным или фиксированным объемом, позволяющие отбирать объемы жидкости 5-50 мкл; 20-200 мкл; 100-1000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (ошибка не более 3%) (фирма «ТермоЭлектрон», Россия);
- одноразовые наконечники с фильтром (аэрозольным барьером) до 1000 мкл;
- одноразовые наконечники с фильтром (аэрозольным барьером) до 100 или до 200 мкл;
- одноразовые полипропиленовые пробирки вместимостью 15-50 мл;
- одноразовые перчатки;
- емкость для сброса использованных наконечников;
- холодильник для хранения исходных реагентов;
- микроцентрифуга, развивающая ускорение до 12000 об/мин (16000 g);

- микроцентрифуга-вортекс.

Дополнительно при ручном режиме экстракции:

- магнитный штатив для пробирок 1,5 мл;
- одноразовые наконечники без фильтра до 100 или до 200 мкл;
- штативы для наконечников 200 мкл;
- одноразовые полипропиленовые пробирки вместимостью 1,5 мл;
- твердотельный термостат для пробирок 1,5 мл типа Эппендорф, поддерживающий температуру до 99°C;
- аспиратор с колбой-ловушкой для отбора надосадочной жидкости;
- штатив для пробирок 1,5 мл «рабочее место».

Дополнительно при использовании автоматизированного выделения:

- автоматическая станция для выделения с расходными материалами.

9. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ И ПРОБОПОДГОТОВКА

9.1. Материал для исследования

Материалом для экстракции набором реагентов НК-магнит являются клинические образцы биологического материала человека (биологические жидкости: отделяемое слизистых оболочек, секрет предстательной железы, моча, мокрота, плевральная жидкость, сперма, цельная кровь, лейкоциты крови, сыворотка или плазма, отделяемое из ран, ликвор, синовиальная жидкость, слюна, экссудат; кал; смывы, мазки и соскобы с оболочек органов и тканей, сухие пятна крови), смывы с поверхностей и образцы культур микроорганизмов (в том числе гемокультуры).

9.2. Взятие биологического материала

9.2.1. Общие рекомендации по взятию биоматериала

9.2.1.1. Взятие биоматериала производится из предполагаемого места обитания микроорганизма.

9.2.1.2. Объём отбираемого биоматериала не должен быть избыточным. При взятии мазков и соскобов достаточно получить материал в объёме «спичечной головки». Идеальный инструмент для взятия соскобов и мазков — специальный урогенитальный зонд (щеточка), который собирает необходимое количество эпителия, не травмируя слизистую. Присутствие в исследуемом материале большого количества слизи и примеси крови могут привести как к ложноположительным, так и ложноотрицательным результатам.

9.2.1.3. Для взятия проб необходимо пользоваться только одноразовым инструментом и стерильными пластиковыми контейнерами (или пробирками) с плотно закрывающейся крышкой.

9.2.1.4. При подготовке проб НК для диагностики инфекционных заболеваний взятие биоматериала, по возможности, должно проводиться в период обострения инфекции. За 10 дней до исследования необходимо прекратить прием химиопрепаратов, антибиотиков, средств гормональной терапии. Контроль эффективности лечения должен проводиться не ранее чем через 3 – 4 недели после окончания терапии.

9.2.2. Соскоб из уретры

9.2.2.1. Непосредственно перед взятием материала наружное отверстие уретры обрабатывают тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором.

При наличии гнойных выделений соскоб рекомендуется брать через 15 – 20 мин. после мочеиспускания, при отсутствии выделений необходимо провести массаж уретры с помощью зонда для взятия материала.

9.2.2.2. Зонд вводится в уретру на глубину 1,0 - 4 см, и затем делается несколько осторожных вращательных движений.

9.2.2.3. После взятия материала зонд переносят в пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физиологического раствора и тщательно отмывают, далее зонд удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.3. Соскоб из цервикального канала

9.2.3.1. Перед взятием материала необходимо удалить ватным тампоном слизь и затем обработать шейку матки стерильным физиологическим раствором.

9.2.3.2. Зонд вводится в цервикальный канал на глубину 0,5 – 1,5 см, материал собирается осторожными вращательными движениями. При извлечении зонда необходимо полностью исключить его касание со стенками влагалища.

9.2.3.3. После взятия материала зонд переносят в пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физиологического раствора и тщательно отмывают, далее зонд удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.4. Материал с конъюнктивы глаз (соскоб)

9.2.4.1. При наличии обильного гнойного отделяемого его убирают стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором.

9.2.4.2. Соскоб берут с внутренней поверхности нижнего века движением к внутреннему углу глазной щели. При взятии соскоба необходимо придерживать веко руками, чтобы при моргании ресницы не касались зонда.

9.2.4.3. После взятия материала зонд переносят в пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физиологического раствора и тщательно отмывают, далее зонд удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.5. Буккальный соскоб

9.2.5.1. Забор буккального эпителия следует осуществлять не ранее, чем через час после еды, питья, а также курения. Перед забором материала необходимо хорошо прополоскать рот без использования раздражающих средств.

9.2.5.2. Взятие материала проводят при помощи специального ватного зонд-тампона путем соскоба эпителиальных клеток с внутренней поверхности щеки. Зонд-тампон прислонить к внутренней стороне щеки и вращать в течение 10 секунд с небольшим нажимом.

На всех этапах взятия соскоба категорически запрещается трогать используемый ватный конец руками, а также допускать его контакт с любыми поверхностями.

Если образец буккального соскоба предполагается длительно хранить или транспортировать, то зонд-тампон следует высушить на воздухе при комнатной температуре в течение трех часов, затем упаковать в промаркированный герметичный пакет или бумажный конверт. Транспортировка и хранение высушенных образцов производится в обычных условиях.

9.2.5.3. После взятия материала зонд-тампон переносят в пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физиологического раствора и тщательно отмывают, далее зонд удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.6. Мазок из влагалища (с заднего свода)

9.2.6.1. Материал должен быть взят до проведения мануального исследования. Зеркало перед манипуляцией можно смочить горячей водой, применение антисептиков для обработки зеркала противопоказано.

9.2.6.2. В случае избытка слизи или обильных выделений необходимо удалить их стерильным ватным тампоном.

9.2.6.3. Влагалищное отделяемое собирают стерильным одноразовым зондом из заднего нижнего свода или с патологически измененных участков слизистой.

9.2.6.4. После взятия материала зонд переносят в пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физиологического раствора и тщательно отмывают, далее зонд удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.7. Материал из носоглотки (мазок)

9.2.7.1. Одноразовый зонд помещают в носовой ход.

9.2.7.2. Далее зонд вводят вдоль наружной (боковой) стенки носового хода в нижнюю часть носоглотки до момента, пока не почувствуют препятствие.

9.2.7.3. Поворачивают зонд 3 – 4 раза, упираясь в стенку носоглотки. Далее осторожно извлекают зонд из носового хода.

9.2.7.4. После взятия материала зонд переносят в пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физиологического раствора и тщательно отмывают, далее зонд удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.8. Материал с задней стенки глотки (мазок)

9.2.8.1. Взятие материала проводится натощак или не ранее, чем через 2 – 4 часа после еды.

9.2.8.2. При взятии материала необходимо хорошее освещение, корень языка придавливают шпателем, материал берут стерильным зондом, не касаясь языка, слизистой щек и зубов.

9.2.8.3. Одноразовый зонд вводят за мягкое небо и проводят по поверхности миндалин, небных дужек и по задней стенке глотки или трахеи 2 – 3 раза.

9.2.8.4. После взятия материала зонд переносят в пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физиологического раствора и тщательно отмывают, далее зонд удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.9. Ректальный мазок

В прямую кишку вводят стерильный одноразовый зонд, вращательными движениями собирают материал. После взятия материала зонд переносят в пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физиологического раствора и тщательно отмывают, далее зонд удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.10. Материал из зубодесневых каналов (мазок)

Мазки из зубодесневого кармана с помощью зонда собираются в стерильную пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физ.раствора. Зонд тщательно отмывают и удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.11. Смыв из ротоглотки

9.2.11.1. Предварительно прополоскать полость рта водой.

9.2.11.2. Прополоскать ротоглотку 8-10 мл стерильного физ.раствора в течение 10-15 сек, собрать смыв через воронку в стерильную пробирку объемом 50 мл. Далее пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.12. Смыв из полости носа

Вводят с помощью шприца по 3-5 мл стерильного физ.раствора в оба носовых хода, собирают смыв через воронку в стерильную пробирку объемом 50 мл. Пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.13. Смыв с поверхностей, органов, тканей

9.2.13.1. Для приготовления смывов используют стерильные зонды с ватными тампонами и стерильные пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл, содержащие 0,5 – 1 мл стерильного физиологического раствора.

9.2.13.2. Смочите зонд в физиологическом растворе из пробирки. Прижмите зонд к стенке пробирки, чтобы избавиться от лишней влаги.

9.2.13.3. Проведите тампоном зонда по исследуемой поверхности, затем прополощите зонд в пробирке. Далее пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.14. Отделяемое слизистых оболочек урогенитального тракта и носоглотки, ран

Материал забирают сухим стерильным ватным зонд-тампоном, который вводят вглубь полости. После взятия материала зонд-тампон переносят в пробирку типа Эппендорф с 0,5 – 1 мл физиологического раствора и тщательно отмывают, далее зонд-тампон удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.15. Сперма (семенная жидкость)

Взятие спермы осуществляют в сухой стерильный одноразовый флакон с плотно закручивающейся крышкой. Образец маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.16. Секрет предстательной железы

9.2.15.1. Перед взятием секрета простаты головка полового члена обрабатывается стерильным ватным тампоном, смоченным физиологическим раствором.

9.2.15.2. После предварительного массажа простаты через прямую кишку врач проводит массаж с надавливанием несколькими энергичными движениями от основания к верхушке полового члена.

9.2.15.3. Затем из кавернозной части выдавливается 0,5 - 1 мл простатического секрета, который собирается в сухую стерильную ёмкость. Образец маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.17. Моча

Среднюю часть утренней порции или всю утреннюю порцию мочи собирают утром натошак после тщательного туалета гениталий в сухой стерильный флакон с плотно закручивающейся крышкой. Минимальный объем мочи, необходимый для проведения анализа, составляет 20 мл. Если в лабораторию доставляется не вся собранная моча, то перед тем, как часть мочи сливается в посуду для транспортировки, ее необходимо тщательно взболтать.

9.2.18. Слюна

9.2.18.1. За 12 часов до взятия (сбора) слюны исключается прием пищи и лекарственных препаратов. Перед тем, как собрать слюну, необходимо хорошо прополоскать рот без использования раздражающих средств.

9.2.18.2. Слюну выплевывают или отсасывают со дна рта одноразовым шприцем и переносят в одноразовую стерильную пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.19. Ликвор

Ликвор получают путем прокола поясничной, субокципитальной области или мозговых желудочков одноразовыми пункционными иглами. Переносят 1,0 мл ликвора в одноразовую стерильную пробирку типа Эппендорф объемом 1,5 мл, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.20. Синовиальная жидкость

Для забора синовиальной жидкости выполняют пункцию сустава. Переносят 1,0 мл пункции в одноразовую стерильную пробирку типа Эппендорф объемом 1,5 мл, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.21. Экссудат

Забор экссудата осуществляют с помощью пункции исследуемой области, а также через дренажи. Переносят 1,0 мл забранного экссудата в одноразовую стерильную пробирку типа Эппендорф объемом 1,5 мл, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.22. Мокрота

Взятие мокроты осуществляют утром при глубоком откашливании в количестве не менее 0,5 мл в стерильный одноразовый флакон с широким горлом, закручивающейся крышкой, объемом не менее 50 мл. Образец маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.23. Плевральная жидкость

Плевральную жидкость получают путем прокола плевральной полости одноразовой пункционной иглой. Пункцию в количестве не менее 0,5 мл переносят в стерильный одноразовый флакон с широким горлом, закручивающейся крышкой, объемом не менее 50 мл. Образец маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.24. Промывные воды бронхов, желудка, бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ)

9.2.24.1. Промывные воды бронхов, БАЛ собирают в одноразовые плотно закручивающиеся пробирки объемом 50 мл. Образец маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.24.2. Промывные воды желудка следует брать натошак. Последний приём пищи должен быть не менее чем за 12 часов до взятия промывных вод желудка. Перед взятием материала для нейтрализации содержимого желудка вводят внутрь 100 – 150 мл раствора питьевой соды (1 чайная ложка на 1 стакан воды) на стерильной дистиллированной воде, после чего в желудок проводят стерильный желудочный зонд и собирают содержимое желудка в одноразовую плотно завинчивающуюся пробирку объемом 50 мл. Образец маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.25. Кал

Материал собирается без подготовки в чистый, сухой контейнер с широким горлышком и с плотно завинчивающейся крышкой. Кал собирают после самостоятельной дефекации в небольших количествах из разных участков каловых масс. Образец маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.26. Образцы культур микроорганизмов, гемокультуры

Материал отбирают стерильным шприцом в количестве 0,5 – 1 мл в одноразовые стерильные пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл в случае жидких культур и гемокультуры. Образцы маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

В случае культур на твердых средах колонии микроорганизмов с помощью микробиологической петли или зонд-тампона переносят в пробирку типа Эппендорф вместимостью 1,5 мл с 0,5 – 1 мл физиологического раствора, петлю или зонд-тампон тщательно отмывают и далее удаляют, пробирку закрывают и маркируют, после чего материал доставляют в лабораторию.

9.2.27. Цельная кровь

2 – 3 мл венозной крови собирают в одноразовую пластиковую пробирку, содержащую порошок или раствор антикоагулянта (1,2 – 2,0 мг К₂-ЭДТА или 3,8 % (0,129 моль/л) раствор цитрата натрия). **ГЕПАРИН ИСПОЛЬЗОВАТЬ НЕЛЬЗЯ!**

При использовании системы вакуумного забора крови используются вакутейнеры с фиолетовой крышкой (ЭДТА) или голубой (цитрат натрия).

9.2.28. Плазма крови

2 – 3 мл венозной крови собирают в одноразовую пластиковую пробирку, содержащую порошок или раствор антикоагулянта (1,2 – 2,0 мг К₂-ЭДТА или 3,8 % (0,129 моль/л) раствор цитрата натрия). **ГЕПАРИН ИСПОЛЬЗОВАТЬ НЕЛЬЗЯ!**

При использовании системы вакуумного забора крови используются вакутейнеры с фиолетовой крышкой (с ЭДТА).

9.2.29. Сыворотка крови

2 – 3 мл венозной крови собирают в одноразовую пластиковую пустую пробирку.

При использовании системы вакуумного забора крови используются вакутейнеры с красной крышкой (для получения сыворотки).

9.2.30. Сухие пятна крови

Взятие образцов крови у пациентов проводится в соответствии с Инструкциями производителей к фильтровальным бумажным тест-бланкам.

9.3. Транспортировка и хранение биологического материала

Таблица 3

Биоматериал	Транспортировка	Хранение
мазки, соскобы, отделяемое ран, отделяемое слизистых оболочек кал, сперма, секрет предстательной железы, культуры микроорганизмов	Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 2 часов, транспортировка должна производиться только в сумке-холодильнике.	Неохлажденные образцы использовать в течение 2-х часов для выделения НК. Допускается хранение биопроб при +4...+8°C не более 2 суток.

моча	Собранную мочу доставляют в лабораторию в течение 2 часов без дополнительного охлаждения. Для получения осадка исходный материал должен быть доставлен в лабораторию как можно быстрее.	<i>Не охлаждать и не замораживать!</i> Моча для исследования должна быть свежей. Неохлажденные образцы использовать в течение 2-х часов для выделения НК.
слюна, ликвор, синовиальная жидкость, экссудат, смывы, промывные воды, мокрота, плевральная жидкость	Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 2 часов, транспортировка должна производиться только в сумке-холодильнике.	Неохлажденные образцы использовать в течение 2-х часов для выделения НК. Допускается хранение биопроб при +4...+8°C не более 1 суток.
плазма крови, сыворотка крови, цельная кровь	Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение 2 часов, транспортировка должна производиться только в сумке-холодильнике.	<i>Не замораживать!</i> Неохлажденные образцы использовать в течение 2-х часов для выделения НК. Допускается хранение биопроб при +4...+8°C не более 1 суток.
сухие пятна крови	Транспортировка образцов сухих пятен крови проводится в соответствии с Инструкциями производителей к фильтровальным бумажным тест-бланкам.	Хранение образцов сухих пятен крови проводится в соответствии с Инструкциями производителей к фильтровальным бумажным тест-бланкам.

10. ПРОВЕДЕНИЕ ЭКСТРАКЦИИ

10.1. Предварительная обработка материала

10.1.1. Предобработка образцов мазков, соскобов, отделяемого слизистых оболочек и ран, культур микроорганизмов, сыворотки и плазмы крови, цельной крови не требуется.

10.1.2. Предобработка образцов мокроты, плевральной жидкости и спермы не требуется.
Если необходимо разжижение образца, использовать стандартные методики для разжижения.

10.1.3. Предобработка образцов ликвора, слюны, синовиальной жидкости, экссудата

10.1.3.1. Центрифугировать пробирки с образцами в течение 10 – 15 минут на микроцентрифуге при максимальных оборотах;

10.1.3.2. Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл надосадочной жидкости с осадком.

10.1.3.3. В пробирку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.

10.1.3.4. Полученный образец использовать для выделения НК.

10.1.4. Предобработка образцов мочи

При выделении из **цельной мочи** предварительная обработка образцов мочи не требуется.

Для выделения из **осадка мочи**

10.1.4.1. Весь объем порции мочи тщательно взболтать, отобрать 10 – 15 мл в стерильную центрифужную пробирку.

10.1.4.2. Центрифугировать пробирки с образцами в течение 15 – 20 минут при 1500 – 3000 об/мин на центрифуге.

10.1.4.3. Надосадочную жидкость осторожно удалить, стараясь не захватить на дне 0,5 – 1 мл суспензии.

10.1.4.4. Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.

10.1.4.5. Перенести суспензию осадка (0,5 – 1 мл) в соответствующую чистую пробирку на 1,5 мл, пробирку плотно закрыть и центрифугировать при максимальных об/мин при комнатной температуре в течение 15 мин.

10.1.4.6. Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл надосадочной жидкости с осадком.

В случае охлаждения образца исходной мочи рекомендуется однократно промыть осадок мочи: добавить к осадку 200 – 300 мкл физ. раствора, ресуспендировать на вортексе, центрифугировать и удалить надосадочную жидкость.

10.1.4.7. В пробирку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.

10.1.4.8. Полученный образец использовать для выделения НК.

10.1.5. Предобработка образцов промывных вод, смывов

10.1.5.1. Весь объем образца тщательно взболтать, отобрать 10 – 15 мл в стерильную центрифужную пробирку;

10.1.5.2. Центрифугировать пробирки с образцами в течение 15 – 20 минут при 1500 – 3000 об/мин на центрифуге.

10.1.5.3. Надосадочную жидкость осторожно удалить, стараясь не захватить на дне 0,5 – 1 мл суспензии;

10.1.5.4. Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.

10.1.5.5. Перенести суспензию осадка (0,5 – 1 мл) в соответствующую чистую пробирку на 1,5 мл, пробирку плотно закрыть и центрифугировать при максимальных об/мин при комнатной температуре в течение 15 мин.

10.1.5.6. Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл надосадочной жидкости с осадком.

10.1.5.7. В пробирку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.

10.1.5.8. Полученный образец использовать для выделения НК.

10.1.6. Предобработка образцов гемокультуры

10.1.6.1. 0,5 мл образца гемокультуры центрифугировать 10 мин при 3000 об/мин.

10.1.6.2. Удалить супернатант.

10.1.6.3. К осадку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.

10.1.6.4. Полученный образец использовать для выделения НК.

10.1.7. Предобработка образцов кала

Из исследуемых образцов кала приготовить суспензию в стерильном физиологическом растворе с концентрацией 1 г/мл. Для приготовления суспензии перенести объем образца, соответствующий 1 г, в чистую пробирку на 1,5 мл и затем довести его до 1 мл стерильным физиологическим раствором. Тщательно перемешать приготовленную суспензию на вортексе.

Полученный образец суспензии использовать для выделения НК.

10.1.8. Предобработка образцов крови для выделения из ядер лейкоцитов

10.1.8.1. Пробирки с цельной кровью центрифугировать при 3000 об/мин в течение 5 мин.

10.1.8.2. Удалить плазму, используя наконечник с фильтром.

10.1.8.3. Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 или 2,0 мл по числу образцов.

10.1.8.4. Аккуратно собрать лейкоцитарную массу с поверхности осадка в объеме 200 мкл и перенести в соответствующие чистые пробирки.

10.1.8.5. Полученный образец перемешать и использовать для выделения НК.

10.1.9. Предобработка образцов сухих пятен крови

Для предварительной обработки образцов сухих пятен крови использовать «Комплект для предобработки сухих пятен крови».

10.1.9.1. Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.

10.1.9.2. Выбить специализированным дыроколом 3 диска диаметром 3 мм из центра сухого пятна.

Для предотвращения кросс-контаминации рекомендуется после каждого образца обработать лезвие пробойника 70% раствором этанола и обжечь в пламени горелки.

10.1.9.3. Диски поместить в чистую пробирку на 1,5 мл и добавить 200 мкл Раствора DB.

10.1.9.4. Перемешать содержимое пробирки и инкубировать 10 мин при 60° С.

10.1.9.5. Перемешать содержимое пробирки и центрифугировать пробирки 1 мин при максимальных оборотах.

10.1.9.6. Полученный супернатант использовать для выделения НК.

10.2. Проведение экстракции в ручном режиме с использованием магнитного штатива

Внутренние контрольные образцы для этапа выделения (ВКО и т.п.), входящие в состав набора для амплификации, (при наличии) необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора. Для отрицательных и положительных контролей, входящих в состав набора для амплификации и требующих проведения экстракции, (при наличии) выделение проводится аналогично исследуемым образцам.

Перед началом убедиться в том, что Раствор L2 однородный и не содержит видимых кристаллов. В противном случае прогреть Раствор L2 при 60°С 10 минут до полного растворения кристаллов и тщательно перемешать.

10.2.1. Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.

10.2.2. Тщательно перемешать пробирку с Сорбентом на вортексе, убедиться в отсутствии осадка на дне.

10.2.3. Приготовить рабочую смесь из Раствора L2, Раствора N, Сорбента и, при необходимости, ВКО (из комплекта набора для амплификации) из расчета на 1 образец:

Компонент	Объем в мкл
Раствор L2	500
Раствор N	12,5
Сорбент	12,5
ВКО	согласно инструкции к соответствующему набору

В случае проведения одновременной экстракции 96 образцов или 32 образцов для соответствующих комплектаций допустимо внести все содержимое пробирок Сорбент и Раствор N во флакон с Раствором L2 и добавить к получившейся смеси необходимое количество ВКО.

В случае проведения экстракции из небольшого количества образцов допустимо готовить смесь индивидуально для каждого образца, последовательно добавляя указанные компоненты в пробирку 1,5 мл.

Смесь тщательно перемешать. Приготовленная смесь не хранится, ее следует использовать как можно быстрее.

10.2.4. Внести в каждую пробирку по 525 мкл рабочей смеси.

10.2.5. Внести в каждую пробирку по 100 мкл (ДЛЯ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ – 50 мкл) исследуемых образцов. Отрицательный и положительный контроли (при необходимости) вносят в количествах, указанных в инструкции к соответствующему набору.

В случае последующего анализа выделенной НК наборами производства ООО НПФ «Литех» при выделении ДНК из образцов*, обеднённых генетическим материалом человека, в пробирку внести также 5 мкл ЭВК.

**плазма и сыворотка крови, цельная моча, кал, секрет предстательной железы, ликвор, синовиальная жидкость, смывы с поверхностей, культуры микроорганизмов.*

10.2.6. Перемешать содержимое пробирок на вортексе и инкубировать 10 минут при 60°C.

10.2.7. Центрифугировать пробирки для сброса капель с крышки на вортексе. Установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.

10.2.8. Добавить в пробирки по 500 мкл Раствора W1, перемешать содержимое пробирок на вортексе.

10.2.9. Центрифугировать пробирки для сброса капель с крышки на вортексе. Установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.

10.2.10. Повторить п. 10.2.8. – 10.2.9.

10.2.11. Добавить в пробирки по 500 мкл Раствора W2, перемешать содержимое пробирок на вортексе.

10.2.12. Центрифугировать пробирки для сброса капель на вортексе и установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту. Удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.

10.2.13. Оставить пробирки с открытой крышкой в магнитном штативе при комнатной температуре на 10 минут.

10.2.14. Добавить в пробирки по 100 мкл Раствора Е. Перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента и инкубировать 10 минут при 60°C.

10.2.15. Центрифугировать пробирки для сброса капель на вортексе и установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту, либо центрифугировать 1 минуту при 10-13 тыс. об/мин.

10.2.16. Надосадочная жидкость содержит очищенную НК. Перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

При постановке реакции обратной транскрипции и амплификации следует не допускать попадания сорбента в реакционную смесь.

Полученный раствор НК можно хранить при температуре -18...-20 °C в течение года.

10.3. Проведение экстракции с использованием автоматической станции KingFisher Flex или Auto-Pure 96

Внутренние контрольные образцы для этапа выделения (ВКО и т.п.), входящие в состав набора для амплификации, (при наличии) необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора. Для отрицательных и положительных контролей, входящих в состав набора для амплификации и требующих проведения экстракции, (при наличии) выделение проводится аналогично исследуемым образцам.

Перед началом убедиться в том, что Раствор L2 однородный и не содержит видимых кристаллов. В противном случае прогреть Раствор L2 при 60°C 10 минут до полного растворения кристаллов и тщательно перемешать.

10.3.1. Подготовить 6 глубоколоночных планшетов для автоматической станции.

Подписать их: ГР, L2, W1-1, W1-2, W2, Е.

10.3.2. Тщательно перемешать пробирку с Сорбентом на вортексе, убедиться в отсутствии осадка на дне.

10.3.3. Приготовить рабочую смесь из Раствора L2, Раствора N, Сорбента и, при необходимости, ВКО (из комплекта набора для амплификации) из расчета на 1 образец:

Компонент	Объем в мкл
Раствор L2	500
Раствор N	12,5
Сорбент	12,5
ВКО	согласно инструкции к соответствующему набору

В случае проведения одновременной экстракции 96 образцов или 32 образцов для соответствующих комплектаций допустимо внести все содержимое пробирок Сорбент и Раствор N во флакон с Раствором L2 и добавить к получившейся смеси необходимое количество ВКО.

10.3.4. Смесь тщательно перемешать. Приготовленная смесь не хранится, ее следует использовать как можно быстрее.

10.3.5. В подготовленные ранее глубоколоночные планшеты внести:

- в планшет ГР установить одноразовую гребенку;
- в планшет L2 внести **525 мкл** приготовленной смеси Раствора L2, Раствора N, Сорбента и ВКО;
- в планшет W1-1 внести **500 мкл** Раствора W1;
- в планшет W1-2 внести **500 мкл** Раствора W1;
- в планшет W2 внести **500 мкл** Раствора W2;
- в планшет Е внести **100 мкл** Раствора Е.

10.3.6. Внести в планшет L2 по 100 мкл (**ДЛЯ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ – 50 мкл**) исследуемых образцов. Отрицательный и положительный контроли (при необходимости) вносят в количествах, указанных в инструкции к соответствующему набору.

Если объем образца, используемый для выделения, меньше 50 мкл, необходимо довести его до 50 мкл деионизованной водой, либо физиологическим раствором (в состав набора не входят).

В случае последующего анализа выделенной НК наборами производства ООО НПФ «Литех» при выделении ДНК из образцов*, обедненных генетическим материалом человека, в пробирку внести также **5 мкл ЭВК**.

**плазма и сыворотка крови, цельная моча, кал, секрет предстательной железы, ликвор, синовиальная жидкость, смывы с поверхностей, культуры микроорганизмов.*

10.3.7. Установить планшеты в автоматическую станцию и запустить протокол «NA-magnet Lytech» (файл протокола предоставляется по запросу пользователя).

10.3.8. После выполнения протокола в планшете Е содержится раствор очищенной НК.

Полученный раствор НК можно хранить при температуре -18...-20 °С в течение года.

11. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1. Условия хранения

Набор НК-магнит всех вариантов исполнения должен храниться при температуре +2...+30 °С в течение всего срока годности. Срок годности набора – 12 месяцев.

Не допускается замораживание реагентов.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности и условия хранения вскрытых реагентов соответствуют сроку годности и условиям хранения, указанным на этикетках для невскрытых реагентов.

11.2. Транспортирование

Набор реагентов НК-магнит транспортируют всеми видами транспорта (в закрытых железнодорожных вагонах, в отапливаемых герметичных отсеках самолетов и автомобильным транспортом) по правилам перевозок грузов соответствующих транспортных ведомств.

Условия транспортирования набора должны соответствовать условиям хранения!

Не допускается замораживание реагентов.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА НАБОРА

Предприятие-изготовитель проводит приемочные испытания для каждой производственной серии, осуществляя верификационный контроль основных аналитических характеристик (технические характеристики), внешний вид, комплектность, упаковку, маркировку, а также контроль качества сырья и компонентов.

13. БЕЗОПАСНАЯ УТИЛИЗАЦИЯ

Уничтожение отходов, использованных и неиспользованных компонентов набора, наборов реагентов с истекшим сроком годности проводить в соответствии с СанПиН 1.2.3684-21.

Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) уничтожают разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор.

Отходы биоматериала (инфицированные и потенциально инфицированные отходы) из клиничко-диагностических лабораторий, работающих с микроорганизмами 3-4 групп патогенности, образцы материала после пробоподготовки (выделение НК) относятся к классу Б (эпидемически опасные отходы).

Отходы класса Б подлежат обязательному обеззараживанию (дезинфекции)/обезвреживанию. Выбор метода обеззараживания/обезвреживания определяется возможностями организации, осуществляющей медицинскую деятельность, и выполняется при разработке схемы обращения с медицинскими отходами.

14. ИНФОРМАЦИЯ О ПРОИЗВОДИТЕЛЕ

По вопросам, касающимся качества набора НК-магнит, следует обращаться в ООО НПФ «Литех» по адресу: 119435, г. Москва, ул. Малая Пироговская 1, стр.3, телефон/факс: (495)258-39-47, или e-mail: info@lytech.ru.

«СОГЛАСОВАНО»
Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТР»



П.К. Варнавичус

ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 16 ЛИСТОВ

«23» 12 202__ год

Ген. Директор
ООО «ВЫМПЕЛ-МЕДЦЕНТ»
Варнавичус Д.К.



Прошито, проверено,
скреплено печатью.

Количество листов
_____ шт.

Директор
Наумов А.Ю.



2. Проведение экстракции с использованием автоматической станции KingFisher Flex или Auto-Pure 96

Внутренние контрольные образцы для этапа выделения (ВКО и т.п.), входящие в состав набора для амплификации, (при наличии) необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора. Для отрицательных и положительных контролей, входящих в состав набора для амплификации и требующих проведения экстракции, (при наличии) выделение проводится аналогично исследуемым образцам.

Перед началом убедиться в том, что Раствор L2 однородный и не содержит видимых кристаллов. В противном случае прогреть Раствор L2 при 60°C 10 минут до полного растворения кристаллов и тщательно перемешать.

2.1 Подготовить 6 глубоколоночных планшетов для автоматической станции.

Подписать их: ГР, L2, W1-1, W1-2, W2, E.

2.2 Тщательно перемешать пробирку с Сорбентом на вортексе, убедиться в отсутствии осадка на дне.

2.3 Приготовить рабочую смесь из Раствора L2, Раствора N, Сорбента и, при необходимости, ВКО (из комплекта набора для амплификации) из расчета на 1 образец:

Компонент	Объем в мкл
Раствор L2	500
Раствор N	12,5
Сорбент	12,5
ВКО	согласно инструкции к соответствующему набору

В случае проведения одновременной экстракции 96 образцов или 32 образцов для соответствующих комплекций допустимо внести все содержимое пробирок Сорбент и Раствор N во флакон с Раствором L2 и добавить к получившейся смеси необходимое количество ВКО.

2.4 Смесь тщательно перемешать. Приготовленная смесь не хранится, ее следует использовать как можно быстрее.

2.5 В подготовленные ранее глубоколоночные планшеты внести:

- в планшет ГР установить одноразовую гребенку;
- в планшет L2 внести **525 мкл** приготовленной смеси Раствора L2, Раствора N, Сорбента и ВКО;
- в планшет W1-1 внести **500 мкл** Раствора W1;
- в планшет W1-2 внести **500 мкл** Раствора W1;
- в планшет W2 внести **500 мкл** Раствора W2;
- в планшет E внести **100 мкл** Раствора E.

2.6 Внести в планшет L2 по 100 мкл (для цельной крови – 50 мкл) исследуемых образцов. Отрицательный и положительный контроли (при необходимости) вносят в количествах, указанных в инструкции к соответствующему набору.

Если объем образца, используемый для выделения, меньше 50 мкл, необходимо довести его до 50 мкл деионизованной водой, либо физиологическим раствором (в состав набора не входят).

В случае последующего анализа выделенной НК наборами производства ООО НПФ «Литех» при выделении ДНК из образцов*, обедненных генетическим материалом человека, в пробирку внести также **5 мкл ЭВК**.

*плазма и сыворотка крови, цельная моча, кал, секрет предстательной железы, ликвор, синовиальная жидкость, смывы с поверхностей, культуры микроорганизмов.

2.7 Установить планшеты в автоматическую станцию и запустить протокол «NA-magnet Lytech» (файл протокола представляется по запросу пользователя).

2.8 После выполнения протокола в планшете E содержится раствор очищенной НК.

Полученный раствор НК можно хранить при температуре -18...-20 °C в течение года.

По всем вопросам обращайтесь в офис компании ООО НПФ «Литех»:
телефон (495) 258-39-47, e-mail: info@lytech.ru



ПАМЯТКА

по применению набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала

НК-магнит

Варианты исполнения «Spots 32», «Spots 96»

Набор реагентов **НК-магнит** предназначен для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из образцов биологического материала человека (биологические жидкости: отделяемое слизистых оболочек, секрет предстательной железы, моча, мокрота, плевральная жидкость, сперма, цельная кровь, лейкоциты крови, сыворотка или плазма, отделяемое из ран, ликвор, синовиальная жидкость, слюна, экссудат; кал; смывы, мазки и соскобы с оболочек органов и тканей, сухие пятна крови), а также смывов с поверхностей и образцов культур микроорганизмов (в том числе гемокультуры) для последующего анализа полученных препаратов НК методами молекулярной диагностики с целью диагностики наследственных особенностей организма человека, патологий или инфекционных заболеваний, предполагающей анализ последовательности НК.

Набор **НК-магнит** представляет собой реагенты для этапа пробоподготовки образцов с целью последующего анализа нуклеиновых кислот (НК) и является вспомогательным средством на аналитическом этапе клинических лабораторных исследований по установлению этиологии заболеваний, наследственных особенностей организма или патологий, мониторинга течения болезни и факторов риска патологий, а также проведения санитарно-эпидемиологического контроля.

Взятие и транспортировку биоматериала для анализа необходимо проводить согласно инструкции к набору.

Набор может быть использован в ручном режиме с применением магнитного штатива или с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот (KingFisher Flex, РУ № ФСЗ 2009/05562; Auto-Pure 96, РУ № ПЗН 2021/14263).

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ И ПРОБОПОДГОТОВКА

Образцы мазков, соскобов, отделяемого слизистых оболочек и ран, культур микроорганизмов, сыворотки и плазмы крови, цельной крови предварительной обработки не требуют.

Образцы мокроты, плевральной жидкости и спермы предварительной обработки не требуют. Если необходимо разжижение образца, использовать стандартные методики для разжижения.

Образцы ликвора, слюны, синовиальной жидкости, экссудата:

- Центрифугировать пробирки с образцами в течение 10 – 15 минут на микроцентрифуге при максимальных оборотах;
- Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл надосадочной жидкости с осадком.
- В пробирку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.
- Полученный образец использовать для выделения НК.

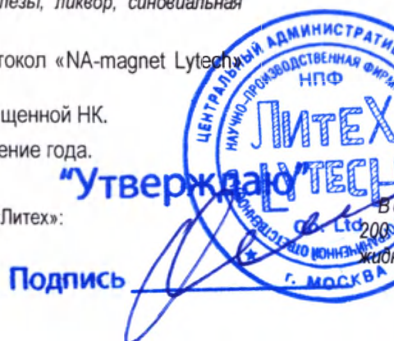
Образцы мочи:

При выделении из цельной мочи предварительная обработка образцов не требуется.

Для выделения из осадка мочи

- Весь объем порции мочи тщательно взболтать, отобрать 10 – 15 мл в стерильную центрифужную пробирку.
- Центрифугировать пробирки с образцами в течение 15 – 20 минут при 1500 – 3000 об/мин на центрифуге.
- Надосадочную жидкость осторожно удалить, стараясь не захватить на дне 0,5 – 1 мл суспензии. Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.
- Перенести суспензию осадка (0,5 – 1 мл) в соответствующую чистую пробирку на 1,5 мл, пробирку плотно закрыть и центрифугировать при максимальных об/мин при комнатной температуре в течение 15 мин.
- Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл надосадочной жидкости с осадком.

В случае охлаждения образца исходной мочи рекомендуется однократно промыть осадок мочи: добавить к осадку 200 – 300 мкл физ. раствора, ресуспендировать на вортексе, центрифугировать и удалить надосадочную жидкость.



Подпись

- В пробирку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.

- Полученный образец использовать для выделения НК.

Образцы промывных вод, смывов:

- Весь объем образца тщательно взболтать, отобрать 10 – 15 мл в стерильную центрифужную пробирку;
- Центрифугировать пробирки с образцами в течение 15 – 20 минут при 1500 – 3000 об/мин на центрифуге.
- Надосадочную жидкость осторожно удалить, стараясь не захватить на дне 0,5 – 1 мл суспензии;
- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.
- Перенести суспензию осадка (0,5 – 1 мл) в соответствующую чистую пробирку на 1,5 мл, пробирку плотно закрыть и центрифугировать при максимальных об/мин при комнатной температуре в течение 15 мин.
- Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл надосадочной жидкости с осадком.
- В пробирку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.
- Полученный образец использовать для выделения НК.

Образцы гемокультуры:

- 0,5 мл образца гемокультуры центрифугировать 10 мин при 3000 об/мин.
- Удалить супернатант.
- К осадку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.
- Полученный образец использовать для выделения НК.

Образцы кала:

Из исследуемых образцов кала приготовить суспензию в стерильном физиологическом растворе с концентрацией 1 г/мл. Для приготовления суспензии перенести объем образца, соответствующий 1 г, в чистую пробирку на 1,5 мл и затем довести его до 1 мл стерильным физиологическим раствором. Тщательно перемешать приготовленную суспензию на вортке. Полученный образец суспензии использовать для выделения НК.

Образцы крови для выделения из ядер лейкоцитов:

- Пробирки с цельной кровью центрифугировать при 3000 об/мин в течение 5 мин.
- Удалить плазму, используя наконечник с фильтром.
- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 или 2,0 мл по числу образцов.
- Аккуратно собрать лейкоцитарную массу с поверхности осадка в объеме 200 мкл и перенести в соответствующие чистые пробирки.
- Полученный образец перемешать и использовать для выделения НК.

Образцы сухих пятен крови:

Для предварительной обработки образцов сухих пятен крови использовать «Комплект для предобработки сухих пятен крови».

- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.
- Выбить специализированным дыроколом 3 диска диаметром 3 мм из центра сухого пятна.

Для предотвращения кросс-контаминации рекомендуется после каждого образца обработать лезвие пробойника 70% раствором этанола и обжечь в пламени горелки.

- Диски поместить в чистую пробирку на 1,5 мл и добавить 200 мкл Раствора DB.
- Перемешать содержимое пробирки и инкубировать 10 мин при 60° С.
- Перемешать содержимое пробирки и центрифугировать пробирки 1 мин при максимальных оборотах.
- Полученный супернатант использовать для выделения НК.

ПРОВЕДЕНИЕ ЭКСТРАКЦИИ

1. Проведение экстракции в ручном режиме с использованием магнитного штатива

Внутренние контрольные образцы для этапа выделения (ВКО и т.п.), входящие в состав набора для амплификации, (при наличии) необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора. Для отрицательных и положительных контролей, входящих в состав набора для амплификации и требующих проведения экстракции, (при наличии) выделение проводится аналогично исследуемым образцам.

Перед началом убедиться в том, что Раствор L2 однородный и не содержит видимых кристаллов. В 10 минут до полного растворения кристаллов и

1.1 Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.

1.2. Тщательно перемешать пробирку с Сорбентом на вортке, убедиться в отсутствии осадка на дне.

1.3. Приготовить рабочую смесь из Раствора L2, Раствора N, Сорбента и, при необходимости, ВКО (из комплекта набора для амплификации) из расчета на 1 образец:

Компонент	Объем в мкл
Раствор L2	500
Раствор N	12,5
Сорбент	12,5
ВКО	согласно инструкции к соответствующему набору

В случае проведения одновременной экстракции 96 образцов или 32 образцов для соответствующих комплектов можно внести все содержимое пробирок Сорбент и Раствор N во флакон с Раствором L2 и добавить к получившейся смеси необходимое количество ВКО.

В случае проведения экстракции из небольшого количества образцов допустимо готовить смесь индивидуально для каждого образца, последовательно добавляя указанные компоненты в пробирку 1,5 мл.

Смесь тщательно перемешать. Приготовленная смесь не хранится, ее следует использовать как можно быстрее.

1.4. Внести в каждую пробирку по 525 мкл рабочей смеси.

1.5. Внести в каждую пробирку по 100 мкл (для ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ – 50 мкл) исследуемых образцов. Отрицательный и положительный контроли (при необходимости) вносят в количествах, указанных в инструкции к соответствующему набору.

В случае последующего анализа выделенной НК наборами производства ООО НПФ «Литех» при выделении ДНК из образцов*, обедненных генетическим материалом человека, в пробирку внести также 5 мкл ЭВК.

*плазма и сыворотка крови, цельная моча, кал, секрет предстательной железы, ликвор, синовиальная жидкость, смывы с поверхностей, культуры микроорганизмов.

1.6. Перемешать содержимое пробирок на вортке и инкубировать 10 минут при 60°С.

1.7. Центрифугировать пробирки для сброса капель с крышки на вортке. Установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.

1.8. Добавить в пробирки по 500 мкл Раствора W1, перемешать содержимое пробирок на вортке.

1.9. Центрифугировать пробирки для сброса капель с крышки на вортке. Установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.

1.10. Повторить п. 1.8. – 1.9.

1.11. Добавить в пробирки по 500 мкл Раствора W2, перемешать содержимое пробирок на вортке.

1.12. Центрифугировать пробирки для сброса капель на вортке и установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту. Удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.

1.13. Оставить пробирки с открытой крышкой в магнитном штативе при комнатной температуре на 10 минут.

1.14. Добавить в пробирки по 100 мкл Раствора E. Перемешать на вортке до полного ресуспендирования сорбента и инкубировать 10 минут при 60°С.

1.15. Центрифугировать пробирки для сброса капель на вортке и установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту, либо центрифугировать 1 минуту при 10-13 тыс. об/мин.

1.16. Надосадочная жидкость содержит очищенную НК. Перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

При постановке реакции обратной транскрипции и амплификации следует не допускать попадания сорбента в реакционную смесь.

Полученный раствор НК можно хранить при температуре -18...-20 °С в течение года.

2. Проведение экстракции с использованием автоматической станции KingFisher Flex или Auto-Pure 96

Внутренние контрольные образцы для этапа выделения (ВКО и т.п.), входящие в состав набора для амплификации, (при наличии) необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора. Для отрицательных и положительных контролей, входящих в состав набора для амплификации и требующих проведения экстракции, (при наличии) выделение проводится аналогично исследуемым образцам.

Перед началом убедиться в том, что Раствор L2 однородный и не содержит видимых кристаллов. В противном случае прогреть Раствор L2 при 60°C 10 минут до полного растворения кристаллов и тщательно перемешать.

2.1. Подготовить 6 глубоколоночных планшетов для автоматической станции.

Подписать их: ГР, L2, W1-1, W1-2, W2, E.

2.2 Тщательно перемешать пробирку с Сорбентом на вортексе, убедиться в отсутствии осадка на дне.

2.3. Приготовить рабочую смесь из Раствора L2, Раствора N, Сорбента и, при необходимости, ВКО (из комплекта набора для амплификации) из расчета на 1 образец:

Компонент	Объем в мкл
Раствор L2	500
Раствор N	12,5
Сорбент	12,5
ВКО	согласно инструкции к соответствующему набору

В случае проведения одновременной экстракции 96 образцов или 32 образцов для соответствующих комплекций допустимо внести все содержимое пробирок Сорбент и Раствор N во флакон с Раствором L2 и добавить к получившейся смеси необходимое количество ВКО.

2.4. Смесь тщательно перемешать. Приготовленная смесь не хранится, ее следует использовать как можно быстрее.

2.5. В подготовленные ранее глубоколоночные планшеты внести:

- в планшет ГР установить одноразовую гребенку;
- в планшет L2 внести **525 мкл** приготовленной смеси Раствора L2, Раствора N, Сорбента и ВКО;
- в планшет W1-1 внести **500 мкл** Раствора W1;
- в планшет W1-2 внести **500 мкл** Раствора W1;
- в планшет W2 внести **500 мкл** Раствора W2;
- в планшет E внести **100 мкл** Раствора E.

2.6. Внести в планшет L2 по 100 мкл (**для цельной крови – 50 мкл**) исследуемых образцов. Отрицательный и положительный контроли (при необходимости) вносят в количествах, указанных в инструкции к соответствующему набору.

Если объем образца, используемый для выделения, меньше 50 мкл, необходимо довести его до 50 мкл деионизованной водой, либо физиологическим раствором (в состав набора не входят).

В случае последующего анализа выделенной НК наборами производства ООО НПФ «Литех» при выделении ДНК из образцов*, обедненных генетическим материалом человека, в пробирку внести также **5 мкл ЭВК**.

*плазма и сыворотка крови, цельная моча, кал, секрет предстательной железы, ликвор, синовиальная жидкость, смывы с поверхностей, культуры микроорганизмов.

2.7. Установить планшеты в автоматическую станцию и запустить протокол «NA-magnet Lytech» (файл протокола предоставляется по запросу пользователя).

2.8. После выполнения протокола в планшете E содержится раствор очищенной НК.

Полученный раствор НК можно хранить при температуре -18...-20 °C в течение года.



ПАМЯТКА

по применению набора реагентов для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала

НК-магнит

Варианты исполнения «Base 32», «Base 96»

Набор реагентов **НК-магнит** предназначен для выделения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) из образцов биологического материала человека (биологические жидкости: отделяемое слизистых оболочек, секрет предстательной железы, моча, мокрота, плевральная жидкость, сперма, цельная кровь, лейкоциты крови, сыворотка или плазма, отделяемое из ран, ликвор, синовиальная жидкость, слюна, экссудат; кал; смывы, мазки и соскобы с оболочек органов и тканей, сухие пятна крови), а также смывов с поверхностей и образцов культур микроорганизмов (в том числе гемокультуры) для последующего анализа полученных препаратов НК методами молекулярной диагностики с целью диагностики наследственных особенностей организма человека, патологий или инфекционных заболеваний, предполагающей анализ последовательности НК.

Набор НК-магнит представляет собой реагенты для этапа пробоподготовки образцов с целью последующего анализа нуклеиновых кислот (НК) и является вспомогательным средством на аналитическом этапе клинических лабораторных исследований по установлению этиологии заболеваний, наследственных особенностей организма или патологий, мониторинга течения болезни и факторов риска патологий, а также проведения санитарно-эпидемиологического контроля.

Взятие и транспортировку биоматериала для анализа необходимо проводить согласно инструкции к набору.

Набор может быть использован в ручном режиме с применением магнитного штатива или с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот (KingFisher Flex, РУ № ФСЗ 2009/05562; Auto-Pure 96, РУ № РЗН 2021/14263).

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ И ПРОБОПОДГОТОВКА

Образцы мазков, соскобов, отделяемого слизистых оболочек и ран, культур микроорганизмов, сыворотки и плазмы крови, цельной крови предварительной обработки не требуют.

Образцы мокроты, плевральной жидкости и спермы предварительной обработки не требуют. Если необходимо разжижение образца, использовать стандартные методики для разжижения.

Образцы ликвора, слюны, синовиальной жидкости, экссудата:

- Центрифугировать пробирки с образцами в течение 10 – 15 минут на микроцентрифуге при максимальных оборотах;
- Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл надосадочной жидкости с осадком.
- В пробирку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.
- Полученный образец использовать для выделения НК.

Образцы мочи:

При выделении из **цельной мочи** предварительная обработка образцов мочи не требуется.

Для выделения из **осадка мочи**

Весь объем порции мочи тщательно взболтать, отобрать 10 – 15 мл в стерильную центрифужную пробирку.

Центрифугировать пробирки с образцами в течение 15 – 20 минут при 1500 – 3000 об/мин на центрифуге.

- Надосадочную жидкость осторожно удалить, стараясь не захватить на дне 0,5 – 1 мл суспензии.

- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.

Перенести суспензию осадка (0,5 – 1 мл) в соответствующую чистую пробирку на 1,5 мл, пробирку плотно закрыть и центрифугировать при максимальных об/мин при комнатной температуре в течение 15 мин.



- Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл надосадочной жидкости с осадком.

В случае охлаждения образца исходной мочи рекомендуется однократно промыть осадок мочи: добавить к осадку 200 – 300 мкл физ. раствора, ресуспендировать на вортексе, центрифугировать и удалить надосадочную жидкость.

- В пробирку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.
- Полученный образец использовать для выделения НК.

Образцы промывных вод, смывов:

- Весь объем образца тщательно взболтать, отобрать 10 – 15 мл в стерильную центрифужную пробирку;
- Центрифугировать пробирки с образцами в течение 15 – 20 минут при 1500 – 3000 об/мин на центрифуге.
- Надосадочную жидкость осторожно удалить, стараясь не захватить на дне 0,5 – 1 мл суспензии;
- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.
- Перенести суспензию осадка (0,5 – 1 мл) в соответствующую чистую пробирку на 1,5 мл, пробирку плотно закрыть и центрифугировать при максимальных об/мин при комнатной температуре в течение 15 мин.
- Тщательно удалить пипеткой верхний слой жидкости, оставив на дне около 20-30 (но не более 50) мкл надосадочной жидкости с осадком.
- В пробирку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.
- Полученный образец использовать для выделения НК.

Образцы гемокультуры:

- 0,5 мл образца гемокультуры центрифугировать 10 мин при 3000 об/мин.
- Удалить супернатант.
- К осадку добавить 100 мкл физиологического раствора (не входит в состав набора) и тщательно перемешать.
- Полученный образец использовать для выделения НК.

Образцы кала:

Из исследуемых образцов кала приготовить суспензию в стерильном физиологическом растворе с концентрацией 1 г/мл. Для приготовления суспензии перенести объем образца, соответствующий 1 г, в чистую пробирку на 1,5 мл и затем довести его до 1 мл стерильным физиологическим раствором. Тщательно перемешать приготовленную суспензию на вортексе. Полученный образец суспензии использовать для выделения НК.

Образцы крови для выделения из ядер лейкоцитов:

- Пробирки с цельной кровью центрифугировать при 3000 об/мин в течение 5 мин.
- Удалить плазму, используя наконечник с фильтром.
- Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 или 2,0 мл по числу образцов.
- Аккуратно собрать лейкоцитарную массу с поверхности осадка в объеме 200 мкл и перенести в соответствующие чистые пробирки.
- Полученный образец перемешать и использовать для выделения НК.

ПРОВЕДЕНИЕ ЭКСТРАКЦИИ

1. Проведение экстракции в ручном режиме с использованием магнитного штатива

Внутренние контрольные образцы для этапа выделения (ВКО и т.п.), входящие в состав набора для амплификации, (при наличии) необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора. Для отрицательных и положительных контролей, входящих в состав набора для амплификации и требующих проведения экстракции, (при наличии) выделение проводится аналогично исследуемым образцам.

Перед началом убедиться в том, что Раствор L2 однородный и не содержит видимых кристаллов. В противном случае прогреть Раствор L2 при 60°C 10 минут до полного растворения кристаллов и тщательно перемешать.

1.1 Подготовить и промаркировать чистые пробирки на 1,5 мл по числу образцов.

1.2. Тщательно перемешать пробирку с Сорбентом на вортексе, убедиться в отсутствии осадка на дне.

1.3. Приготовить рабочую смесь из Раствора L2, Раствора N, Сорбента и, при необходимости, ВКО (из комплекта набора для амплификации) из расчета на 1 образец:

Компонент	Объем в мкл
Раствор L2	500
Раствор N	12,5
Сорбент	12,5
ВКО	согласно инструкции к соответствующему набору

В случае проведения одновременной экстракции 96 образцов или 32 образцов для соответствующих комплектаций допустимо внести все содержимое пробирок Сорбент и Раствор N во флакон с Раствором L2 и добавить к получившейся смеси необходимое количество ВКО.

В случае проведения экстракции из небольшого количества образцов допустимо готовить смесь индивидуально для каждого образца, последовательно добавляя указанные компоненты в пробирку 1,5 мл.

Смесь тщательно перемешать. Приготовленная смесь не хранится, ее следует использовать как можно быстрее.

1.4. Внести в каждую пробирку по 525 мкл рабочей смеси.

1.5. Внести в каждую пробирку по 100 мкл (**для ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ – 50 мкл**) исследуемых образцов. Отрицательный и положительный контроли (при необходимости) вносят в количествах, указанных в инструкции к соответствующему набору.

В случае последующего анализа выделенной НК наборами производства ООО НПФ «Литех» при выделении ДНК из образцов*, обедненных генетическим материалом человека, в пробирку внести также **5 мкл ЭВК**.

**плазма и сыворотка крови, цельная моча, кал, секрет предстательной железы, ликвор, синовиальная жидкость, смывы с поверхностей, культуры микроорганизмов.*

1.6. Перемешать содержимое пробирок на вортексе и инкубировать 10 минут при 60°C.

1.7. Центрифугировать пробирки для сброса капель с крышки на вортексе. Установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.

1.8. Добавить в пробирки по 500 мкл Раствора W1, перемешать содержимое пробирок на вортексе.

1.9. Центрифугировать пробирки для сброса капель с крышки на вортексе. Установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту и удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.

1.10. Повторить п. 1.8. – 1.9.

1.11. Добавить в пробирки по 500 мкл Раствора W2, перемешать содержимое пробирок на вортексе.

1.12. Центрифугировать пробирки для сброса капель на вортексе и установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту. Удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником, используя вакуумный аспиратор.

1.13. Оставить пробирки с открытой крышкой в магнитном штативе при комнатной температуре на 10 минут.

1.14. Добавить в пробирки по 100 мкл Раствора E. Перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента и инкубировать 10 минут при 60°C.

1.15. Центрифугировать пробирки для сброса капель на вортексе и установить пробирки в магнитный штатив на 1 минуту, либо центрифугировать 1 минуту при 10-13 тыс. об/мин.

1.16. Надосадочная жидкость содержит очищенную НК. Перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

При постановке реакции обратной транскрипции и амплификации следует не допускать попадания сорбента в реакционную смесь.

Полученный раствор НК можно хранить при температуре -18...-20 °C в течение года.