

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального бюджетного
учреждения науки «Центральный
научно-исследовательский институт
эпидемиологии» Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека



[Handwritten signature]

В.Г. Акимкин

«14» марта 2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

комплекта реагентов для экстракции ДНК
из биологического материала

«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»

АмплиСенс®



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6
тел. (495) 974 9642, e-mail: amplisens@pcr.ru

IVD

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
НАЗНАЧЕНИЕ.....	3
ПРИНЦИП МЕТОДА.....	4
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ	4
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА.....	5
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	6
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ.....	7
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ	8
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.	
ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК.....	10
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ	
ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.	10
ФОРМА 1: «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» вариант 100	12
СОСТАВ	12
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	12
Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную	13
Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции	
нуклеиновых кислот (форма 1).....	15
Хранение очищенной ДНК.....	17
ФОРМА 2: «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» вариант 100D.....	18
СОСТАВ	18
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	18
А. Концентрирование эпителиальных клеток.....	19
Б. Отмывка и лизис эпителиальных клеток.....	19
В. Очистка ДНК на магнетизированной силике.....	20
Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную	20
Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции	
нуклеиновых кислот (форма 2).....	21
Хранение очищенной ДНК.....	21
СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ	21
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	21
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ	21

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО-FL	– экзогенный внутренний контрольный образец
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИППП	– инфекции, передающиеся половым путем
МАНК	– методы амплификации нуклеиновых кислот
МУ	– методические указания
НК	– нуклеиновые кислоты
ОК	– отрицательный контроль экстракции
ОКО	– отрицательный контрольный образец
ПК	– положительный контроль экстракции
ПКО	– положительный контрольный образец
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РУ	– регистрационное удостоверение
СанПиН	– санитарные правила и нормы
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора	– Федеральное бюджетное учреждение науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

НАЗНАЧЕНИЕ

Комплект реагентов «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» предназначен для экстракции ДНК из биологического материала для последующего исследования на наличие ДНК возбудителей ИППП, других инфекций органов репродукции и инфекций мочевыводящих путей методами амплификации нуклеиновых кислот (МАНК):

- отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки влагалища,
- соскоб со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ),
- соскоб со слизистой оболочки цервикального канала, взятый в транспортно-фиксирующую спиртосодержащую среду для жидкостной цитологии,
- отделяемое слизистой оболочки уретры,
- отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки ротоглотки,
- отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки прямой кишки/анального канала,
- моча.

Ограничения по применению медицинского изделия в различных популяционных и демографических группах отсутствуют.

Экстракция ДНК используется на преаналитическом этапе *in vitro* диагностики МАНК.

Потенциальные пользователи медицинского изделия: к работе с комплектом реагентов допускаются только медицинские работники с высшим профильным образованием (например, врачи-бактериологи, врачи-медицинские микробиологи, врачи клинической лабораторной диагностики, биологи), специалисты со средним медицинским образованием (например, медицинские технологи, медицинские лабораторные техники (фельдшеры-лаборанты), лаборанты), допущенные к работе в лаборатории, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке.

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ

Экстракция ДНК используется на преаналитическом этапе *in vitro* диагностики МАНК.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследуемые образцы обрабатываются лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики (магнитного сорбента), в результате чего происходит деструкция клеточных мембран, вирусных оболочек и других биополимерных комплексов и высвобождение ДНК. Растворенная ДНК связывается с частицами сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются с отмывкой после осаждения сорбента магнитной силой. При добавлении к магнитному сорбенту буфера для элюции происходит переход ДНК в раствор с поверхности сорбента, который затем отделяется от раствора ДНК магнитной силой.

В результате указанной процедуры получается высокоочищенный препарат ДНК, свободный от ингибиторов реакции амплификации, что обеспечивает высокую аналитическую чувствительность МАНК.

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

Форма 1: «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» вариант 100

Форма 2: «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» вариант 100D

Краткое описание форм комплектации приведено в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика	Форма 1	Форма 2
Число исследуемых образцов, включая контроли	100	100
Объем исследуемого материала	100 мкл	около 100 мкл лизированного клеточного осадка
Биологический материал, рекомендуемый для исследования	отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки влагалища, соскоб со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ), отделяемое слизистой оболочки уретры, отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки ротоглотки, отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки прямой кишки/анального канала, моча	соскоб со слизистой оболочки цервикального канала, взятый в транспортно-фиксирующую спиртосодержащую среду для жидкостной цитологии

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ И КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Эффективность экстракции

Эффективность экстракции подтверждена путем проведения МАНК с использованием зарегистрированных медицинских изделий для диагностики *in vitro* в соответствии с их инструкцией и данной инструкцией для всех заявленных биологических материалов.

Контроль качества

Экстракцию ДНК из каждого исследуемого образца рекомендуется проводить в присутствии экзогенного или эндогенного внутреннего контроля, в каждую группу экстрагируемых образцов рекомендуется включать контроли этапа экстракции. Указанные контроли проходят все этапы исследования МАНК, начиная с этапа экстракции НК. Внутренний контроль позволяет оценить эффективность экстракции конкретного исследуемого образца или контроля, отрицательный контроль экстракции (ОК) позволяет контролировать возможную контаминацию исследуемых образцов; положительный контроль экстракции (ПК) (если он

предусмотрен для проведения исследования) позволяет дополнительно оценивать корректность исследования МАНК. Конкретный перечень контролей для проведения исследования МАНК указан в инструкции по применению набора реагентов для амплификации. Правильные результаты, полученные для внутреннего контроля и контроля(ей) экстракции обеспечивают достоверные результаты исследования МАНК, подтверждают пригодность экстрагированных нуклеиновых кислот для МАНК и соответствие заявленных характеристик набора для амплификации.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», 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» и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

Комплект реагентов предназначен для одноразового применения для проведения экстракции ДНК из указанного количества проб (см. раздел «Формы комплектации»).

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

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Температура в помещении лаборатории от 20 до 28 °С, относительная влажность от 15 до 75 %;
- Допускать к работе с комплектом реагентов только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и

правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке;

- 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, при необходимости обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению комплекта реагентов и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности контакт с организмом человека исключен. При аварийных ситуациях возможно следующее:

- раздражение слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц,
- раздражение кожи у чувствительных лиц,
- аллергическая реакция,
- вред при вдыхании,
- вред при приеме внутрь.

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

Сведения о безопасности комплекта реагентов и Листы безопасности реагентов (SDS – safety data sheet) доступны по запросу.

СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ

Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком

годности, использованные реагенты, упаковку¹, биологический материал, а также материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

Перечисленные ниже дополнительные материалы и оборудование, относящиеся к категории медицинских изделий и зарегистрированные на территории Российской Федерации или Евразийского экономического союза, не имеют ограничений по совместному использованию с данным комплектом реагентов, кроме позиций, для которых указаны конкретные примеры.

1. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл.
2. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 2 мл.
3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 200 мкл.
4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 и до 1000 мкл.
5. Штативы для пробирок.
6. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.
7. Бокс микробиологической безопасности II класса защиты.
8. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс g – при использовании формы 2.
9. Центрифуга-вортекс.
10. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °C.

¹ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

11. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосаточной жидкости.
12. Автоматические одноканальные дозаторы переменного объема.
13. Холодильник от 2 до 8 °С.
14. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
15. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

При использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот:

16. Автоматическая станция для экстракции НК открытого типа (например, Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd. (ООО «Ханчжоуская компания инструментов Аошэн»), Китай (ПУ № РЗН 2022/16430)), KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific Oy («Термо Фишер Сайентифик Ой»), Финляндия (ПУ № ФСЗ 2009/05562)), Nexor 96 (Yantai Addcare Bio-Tech Co., Ltd. («Яньтай Эддкеа Био-Тек Ко., Лтд.»), Китай (ПУ № РЗН 2022/18023)), Microlab STARlet (Hamilton Bonaduz AG («Гамильтон Бонадуц АГ»), Швейцария (ПУ № РЗН 2018/6981)), Xiril (Neon 100 series) (Xiril (Tecan Schweiz AG («Тикан Швейц АГ»), Швейцария (ПУ № ФСЗ 2011/0909))).
17. Набор расходных материалов к используемой автоматической станции в соответствии с рекомендациями производителя, в том числе для магнитоперемешивающей станции:
 - 96-луночные гребенки наконечников;
 - 96-луночные планшеты с глубокими лунками;
 - 96-луночный планшет для элюции;
 - самоклеящаяся пленка для планшетов, стерильная.
18. Одноразовые полипропиленовые или полистирольные пробирки объемом от 1,5 до 5 мл с крышками – для приготовления требуемого объема смеси магнетизированной силики.
19. Одноразовые наконечники с фильтрами для дозаторов переменного объема до 100 мкл.
20. Одноразовые наконечники с фильтрами для дозаторов переменного объема до 1000 мкл.
21. Автоматические одноканальные дозаторы переменного

объема.

22. Автоматический 8-канальный дозатор переменного объема.

23. Резервуары (ванночки) для заполнения 8-канальных дозаторов.

ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА². ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК

Информацию о порядке взятия, условиях транспортирования и хранения исследуемого материала, необходимости и порядке его подготовки к экстракции ДНК смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.

Информацию об ограничениях по использованию проб исследуемого материала смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки потенциальной интерференции были выбраны эндогенные и/или экзогенные вещества, которые могут присутствовать в биологическом материале, используемом для исследования (см. табл. 2).

Были протестированы модельные образцы различных видов биологического материала без добавления и с добавлением потенциально интерферирующих веществ. Максимальная концентрация потенциально интерферирующих веществ в модельных образцах и наличие интерференции указаны в табл. 2.

Таблица 2

Вид исследуемого материала	Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Концентрация в образце	Наличие интерференции
Отделяемое (мазок, соскоб) со слизистой	Эндогенные вещества	Муцин	5 %	Не обнаружено
	Экзогенные	Раствор Люголя	0,5 %	Не обнаружено

² См. также «Взятие, транспортировка, хранение биологического материала для ПЦР-диагностики: методические рекомендации» / Домонова Э.А., Творогова М.Г., Подколзин А.Т. [и др.]. Москва: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии, 2021. 112 с. ISBN 978-5-6045286-6-2, DOI: <https://doi.org/10.36233/978-5-6045286-6-2>, веб-сайт <https://prepcr.crie.ru/>

Вид исследуемого материала	Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Концентрация в образце	Наличие интерференции
оболочки ротоглотки	вещества	с глицерином		
		Водный раствор хлоргексидина биглюконата	2,5 %	Не обнаружено
Отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки прямой кишки/анального канала	Экзогенные вещества	Цельная кровь	40 %	Не обнаружено
		Фекальные жиры	40 %	Не обнаружено
		Муцин (слизь)	3 %	Не обнаружено
	Эндогенные вещества	«Лоперамид-Акрихин»	5 мг/мл	Не обнаружено
		«Гидрокортизон»	3 % (вес препарата к объему исследуемого образца)	Не обнаружено
Моча	Эндогенные вещества	Альбумин	500 мг/л	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	«Азитромицин»	0,8 мг/мл	Не обнаружено
Отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки влагалища, соскоб со слизистой оболочки цервикального канала, взятый в транспортно-фиксирующую спиртосодержащую среду для жидкостной цитологии, соскоб со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ), отделяемое слизистой оболочки уретры	Эндогенные вещества	Гемоглобин	260 мкг/мл	Не обнаружено
		Лактоферрин	5 мкг/мл	Не обнаружено
		Гликоген	120 мг/мл	Не обнаружено
		Муцин	150 мкг/мл	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	«Мирамистин»	16 % (объем препарата к объему исследуемого образца)	Не обнаружено
		«Клотримазол»		Не обнаружено
		«Метронидазол»		Не обнаружено
		Неомицин+ Нистатин+ Полимиксин В («Полижинакс»)		Не обнаружено
		Нистатин + Нифурател («Макмирор комплекс»)		Не обнаружено
		Водный раствор хлоргексидина биглюконата		Не обнаружено
		«Hasico For Women», гель-смазка		Не обнаружено
		«Contex Silk», интимный гель-смазка, силиконовый		Не обнаружено
		«Durex Play Feel», гель-смазка для повышения чувствительности		Не обнаружено

ФОРМА 1: «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» вариант 100

СОСТАВ

Таблица 3

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий раствор МС-УРО	Прозрачная жидкость от бесцветного до желтого или розового цвета ³	45	1 флакон
Компонент А-1	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
Раствор для отмывки 4	Прозрачная бесцветная жидкость	20	1 флакон
Магнетизированная силика	Суспензия магнитных частиц	1,0	1 пробирка
Буфер для элюции В	Прозрачная бесцветная жидкость	15	1 флакон
ВКО-FL	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	2 пробирки

Эксплуатационная документация: инструкция по применению, паспорт качества, краткое руководство – на бумажном носителе и на сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Объем исследуемого материала – 100 мкл.

Исследуемый материал – отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки влагалища, соскоб со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ), отделяемое слизистой оболочки уретры, отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки ротоглотки, отделяемое (соскоб/мазок) слизистой оболочки прямой кишки/анального канала, моча.

ВНИМАНИЕ! Порядок подготовки биологического материала к экстракции ДНК смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Лизирующий раствор МС-УРО имеет неприятный запах. Работу проводить в ламинарном боксе.

³ При хранении лизирующего раствора МС-УРО при температуре ниже 20 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную

1. **Лизирующий раствор МС-УРО** при наличии осадка прогреть при температуре **60°C** до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.
2. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая контроли, если они предусмотрены для проведения исследования) и промаркировать их.
3. В отдельной пробирке смешать из расчета на один образец: **10 мкл ВКО-FL** (если он предусмотрен для проведения исследования), **10 мкл компонента А-1** и **10 мкл магнетизированной силики**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас, например:

Количество образцов для экстракции ДНК	ВКО-FL, мкл	Компонент А-1, мкл	Магнетизированная силика, мкл
6	70	70	70
12	130	130	130
18	190	190	190
24	250	250	250

4. Внести в пробирки по **30 мкл** тщательно ресуспендированной смеси ВКО-FL, компонента А-1 и магнетизированной силики (или **20 мкл** смеси в случае отсутствия экзогенного ВКО).
5. Внести в пробирки по **450 мкл лизирующего раствора МС-УРО**.
6. Добавить в каждую пробирку с лизирующим раствором МС-УРО **100 мкл исследуемого образца** и перемешать на вортексе.

Примечание – Допускается изменение объема образца в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

7. В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести **100 мкл ОКО**, в пробирку положительного контроля экстракции (ПК) внести **100 мкл соответствующего ПК** (если они предусмотрены для проведения исследования). Плотнo закрыть крышки и тщательно перемешать на

вортексе.

Примечание – Допускается изменение объемов и разведения ОКО и ПКО в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

8. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °C** на **10 мин.**

9. Перемешать содержимое пробирок, кратким центрифугированием осадить капли. Поставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин.**

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

10. Не извлекая пробирки из магнитного штатива, осторожно удалить надосадочную жидкость по внутренней стенке пробирки, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы.

11. Добавить в пробирки по **200 мкл раствора для отмывки 4**, плотно закрыть крышки.

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

12. Ресуспендировать магнетизированную силику перемешиванием на вортексе, а затем осадить капли кратким центрифугированием.

13. Поставить пробирки в магнитный штатив на **1 мин.**

14. Открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость, как описано выше.

15. Высушить магнетизированную силику, поставив пробирки с открытыми крышками в термостат с температурой **60 °C** на **5 мин.** В случае неполного высыхания сорбента допускается увеличение времени до 10 мин.

16. Добавить в пробирки по **100 мкл буфера для элюции В**, закрыть крышки и перемешать на вортексе.

Примечание – Допускается изменение объема элюции в соответствии с инструкцией к набору реагентов для амплификации.

17. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °C** на **5 мин**, через 2 мин перемешать на вортексе.

18. Осадить капли кратким центрифугированием и переставить

пробирки в магнитный штатив на 2 мин. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот (форма 1)

Подробную информацию по работе с автоматическими станциями смотрите в эксплуатационной документации производителя оборудования.

Экстракция с помощью магнитоперемешивающих станций (например, Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., Китай), KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific Oy, Финляндия), Nexor 96 (Yantai Addcare Bio-Tech Co., Ltd.), или аналогичные).

Для экстракции следует использовать только протоколы, расположенные на сайте amplisens.ru.

ВНИМАНИЕ! Протокол экстракции для автоматической станции содержит специфические параметры, недоступные при экстракции вручную.

1. Лизирующий раствор МС-УРО при наличии осадка прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.
2. Отобрать необходимое количество 96-луночных планшетов (см. п. 3), совместимых с прибором, промаркировать в соответствии с протоколом.
3. Внести в планшеты согласно маркировке и числу экстрагируемых проб:
 - по 450 мкл лизирующего раствора МС-УРО в планшет с глубокими лунками,
 - по 200 мкл раствора для отмывки 4 в планшет с глубокими лунками,
 - по 100 мкл буфера для элюции В в планшет для элюции.

Примечание – Допускается увеличение объема элюции в соответствии с инструкцией к набору реагентов для амплификации.

4. В отдельной пробирке смешать из расчета на один образец:
 - 10 мкл ВКО-FL (если он предусмотрен для проведения исследования),

- **10 мкл** компонента А-1,
- **10 мкл** магнетизированной силики.

Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас (например, при экстракции из 96 образцов рекомендуется готовить смесь на 100 экстракций, т.е. с запасом на 4 образца).

5. Внести в лунки с лизирующим раствором МС-УРО по **30 мкл** тщательно ресуспендированной смеси (или **20 мкл** в случае отсутствия экзогенного ВКО).
6. Внести в лунки с лизирующим раствором МС-УРО и смесью по **100 мкл исследуемых образцов и контролей** (если они предусмотрены для проведения исследования) согласно маркировке.
7. Выбрать протокол экстракции, установить в прибор подготовленные планшеты и планшет с гребенкой согласно протоколу и указателям расстановки.
8. Запустить протокол экстракции ДНК.
9. При необходимости, по окончании экстракции планшет для элюции, содержащий очищенную ДНК, заклеить самоклеящейся пленкой.

Экстракция с помощью пипетирующих станций (например, Xiril (Neon 100 series) (Xiril (Tecan Schweiz AG, Швейцария), MicroLab STARlet (Hamilton Bonaduz AG, Швейцария), или аналогичные).

ВНИМАНИЕ! Экстракция с помощью пипетирующих станций проводится **только** для отделяемого (мазок, соскоб) слизистой оболочки влагалища, соскоба со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ), отделяемого слизистой оболочки уретры, мочи.

1. Отобрать необходимое количество и расставить на рабочем столе станции расходные материалы: наконечники, пробирки/планшеты для элюции.
2. Лизирующий раствор МС-УРО при наличии осадка прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.
3. Расставить пробирки с **ВКО** (если он предусмотрен для проведения исследования), компонентом **А-1** и магнетизированной силикой на рабочем столе станции.
4. Налить лизирующий раствор МС-УРО, раствор для

отмывки 4 и буфер для элюции В в соответствующие контейнеры, установленные на рабочем столе станции.

5. Расставить пробирки с исследуемыми образцами на рабочем столе станции. Выбор штативов для образцов зависит от вида используемых пробирок.
6. В пробирки отрицательного (ОК) и положительного (ПК) контролей экстракции внести **не менее 150 мкл ОКО** и **не менее 150 мкл соответствующего ПКО** (если они предусмотрены для проведения исследования).

Примечание – Допускается изменение объемов и разведения ОКО и ПКО в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации. Объем контрольных образцов должен быть увеличен с учетом запаса.

7. Выбрать и запустить протокол экстракции НК.
8. В случае если элюция производилась в планшет, то при необходимости по окончании экстракции планшет, содержащий очищенные НК, заклеить самоклеящейся пленкой.

Хранение очищенной ДНК

Очищенная ДНК может храниться:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 недели,
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение года.

При экстракции вручную для хранения очищенной ДНК необходимо, не захватывая осадок, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

При автоматической экстракции для хранения очищенной ДНК при минусовой температуре необходимо перенести элюат в пробирки.

ФОРМА 2: «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» вариант 100D

СОСТАВ

Таблица 4

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий раствор МС-УРО	Прозрачная жидкость от бесцветного до желтого или розового цвета ⁴	45	1 флакон
Компонент А-1	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
Раствор для отмывки 4	Прозрачная бесцветная жидкость	20	1 флакон
Магнетизированная силика	Суспензия магнитных частиц	1,0	1 пробирка
Буфер для элюции В	Прозрачная бесцветная жидкость	15	1 флакон
МУКОЛИЗИН	Прозрачная бесцветная жидкость	100	1 флакон
PBS-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	100	1 флакон
Цитолизин	Прозрачная бесцветная жидкость	10	1 флакон
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	2 пробирки

Эксплуатационная документация: инструкция по применению, паспорт качества, краткое руководство – на бумажном носителе и на сайте Изготовителя (www.amplisens.ru).

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Объем исследуемого материала – около 100 мкл лизированного клеточного осадка.

Исследуемый материал – соскоб со слизистой оболочки цервикального канала, взятый в транспортно-фиксирующую спиртосодержащую среду для жидкостной цитологии.

ВНИМАНИЕ! Следует помнить, что отбирать аликвоту клеток для исследования МАНК нужно только одноразовыми наконечниками с фильтром и только в одноразовую пробирку. Важно, чтобы первой отбиралась аликвота клеток для исследования МАНК, второй – для проведения жидкостной цитологии.

⁴ При хранении лизирующего раствора МС-УРО при температуре ниже 20 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

А. Концентрирование эпителиальных клеток

Способ первый:

1. Каждую баночку с образцом для жидкостной цитологии интенсивно встряхнуть для дезинтеграции клеток и оставить при температуре от 18 до 25 °С на 30 минут для оседания клеток.
2. Автоматическим дозатором отобрать 1 мл осадка и аккуратно перенести в новые пробирки на 1,5 мл.
3. Процентрифугировать пробирки на микроцентрифуге в течение 5 мин при 12 тыс g.
4. Не захватывая осадок, удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником без фильтра на 200 мкл, используя вакуумный отсасыватель. Оставить не более 100 мкл осадка с надосадочной жидкостью.

Способ второй:

1. Баночки с образцами для жидкостной цитологии интенсивно встряхнуть для дезинтеграции клеток.
2. Автоматическим дозатором сразу же отобрать 1-2 мл клеточной взвеси и перенести в новые пробирки на 2,0 мл, промаркировать.
3. Процентрифугировать пробирки на микроцентрифуге в течение 5 мин при 12 тыс g.
4. Не захватывая осадок, удалить надосадочную жидкость из каждой пробирки отдельным наконечником без фильтра на 200 мкл, используя вакуумный отсасыватель. Оставить не более 100 мкл осадка с надосадочной жидкостью.

Б. Отмывка и лизис эпителиальных клеток

При наличии слизи в образцах концентрированных эпителиальных клеток необходимо провести их обработку МУКОЛИЗИНОМ.

Если в образцах не наблюдается скопление слизи, то подготовку концентрированных эпителиальных клеток можно начать с отмывки PBS-буфером (пункт 4).

1. К осадку добавить 1 мл МУКОЛИЗИНА, тщательно перемешать на вортексе и поставить пробирки в штатив на 30 мин. Если в пробирке видны следы нерастворившейся слизистой пробки, перемешать содержимое на вортексе и поставить в штатив еще на 10–15 мин.

2. Пробирки центрифугировать на микроцентрифуге при **10 тыс g** в течение **2 мин**.
3. По внутренней стенке пробирки, не захватывая осадок, аккуратно удалить надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробирки, оставив **100-200 мкл** осадка.
4. К осадку добавить **1 мл PBS-буфера**, тщательно перемешать на вортексе.
5. Пробирки центрифугировать на микроцентрифуге при **10 тыс g** в течение **2 мин**.
6. По внутренней стенке пробирки, не захватывая осадок, аккуратно удалить надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробирки, оставив 100-200 мкл осадка. Затем, не захватывая осадок, аккуратно удалить остаток надосадочной жидкости из каждой пробирки, используя автоматический дозатор и отдельный наконечник с фильтром на 200 мкл.
7. Добавить в пробирки с клеточным осадком по **100 мкл цитолизина**, тщательно ресуспендировать осадок пипетированием, используя отдельный наконечник с фильтром на 200 мкл для каждой пробы. Плотнo закрыть пробирки и перемешать на вортексе.
8. Пробирки инкубировать в течение **1 ч** при температуре **60 °C**.

В. Очистка ДНК на магнетизированной силике.

ВНИМАНИЕ! Лизирующий раствор МС-УРО имеет неприятный запах. Работу проводить в ламинарном боксе.

Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную

1. **Лизирующий раствор МС-УРО** при наличии осадка прогреть при температуре **60°C** до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.
2. В отдельной пробирке смешать из расчета на один образец: **10 мкл ВКО** (если он предусмотрен для проведения

исследования), **10 мкл компонента А-1** и **10 мкл магнетизированной силики**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас, например:

Количество образцов для экстракции ДНК	ВКО, мкл	Компонент А-1, мкл	Магнетизированная силика, мкл
6	70	70	70
12	130	130	130
18	190	190	190
24	250	250	250

Примечание – Допускается изменение объема ВКО в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

3. В каждую пробирку с лизированным клеточным осадком внести по **30 мкл** тщательно ресуспендированной смеси ВКО, компонента А-1 и магнетизированной силики (или **20 мкл** смеси в случае отсутствия экзогенного ВКО). В случае изменения объема ВКО вносимый объем смеси должен быть пересчитан.
4. Во все пробирки внести по **450 мкл лизирующего раствора МС-УРО**.
5. В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести **100 мкл ОКО**, в пробирку положительного контроля экстракции (ПК) внести **100 мкл** соответствующего **ПКО** (если они предусмотрены для проведения исследования). Плотнo закрыть крышки и тщательно перемешать на вортексе.

Примечание – Допускается изменение объемов и разведения ОКО и ПКО в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

6. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °C** на **10 мин**.
7. Перемешать содержимое пробирок, кратким центрифугированием осадить капли. Поставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

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

8. Не извлекая пробирки из магнитного штатива, осторожно удалить надосадочную жидкость по внутренней стенке

пробирки, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник для каждой пробы.

9. Добавить в пробирки по **200 мкл раствора для отмывки 4**, плотно закрыть крышки.

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

10. Ресуспендировать магнетизированную силику перемешиванием на вортексе, а затем осадить капли кратким центрифугированием.

11. Поставить пробирки в магнитный штатив на **1 мин.**

12. Открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость, как описано выше.

13. Высушить магнетизированную силику, поставив пробирки с открытыми крышками в термостат с температурой **60 °C** на **5 мин.** В случае неполного высыхания сорбента допускается увеличение времени до 10 мин.

14. Добавить в пробирки по **100 мкл буфера для элюции В**, закрыть крышки и перемешать на вортексе.

Примечание – Допускается изменение объема элюции в соответствии с инструкцией к набору реагентов для амплификации.

15. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °C** на **5 мин**, через 2 мин перемешать на вортексе.

16. Осадить капли кратким центрифугированием и переставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин.** Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот (форма 2)

Подробную информацию по работе с автоматическими станциями смотрите в эксплуатационной документации производителя оборудования.

Экстракция с помощью магнитоперемешивающих станций (например, Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., Китай), KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific Oy, Финляндия), Nexor 96 (Yantai Addcare Bio-Tech Co., Ltd.), или аналогичные).

Для экстракции следует использовать только протоколы, расположенные на сайте amplisens.ru.

ВНИМАНИЕ! Протокол экстракции для автоматической станции содержит специфические параметры, недоступные при экстракции вручную.

1. Лизирующий раствор МС-УРО при наличии осадка прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.
2. Отобрать необходимое количество 96-луночных планшето́в (см. п. 3), совместимых с прибором, промаркировать в соответствии с протоколом.
3. Внести в планшеты согласно маркировке и числу экстрагируемых проб:
 - по 450 мкл лизирующего раствора МС-УРО в планшет с глубокими лунками,
 - по 200 мкл раствора для отмывки 4 в планшет с глубокими лунками,
 - по 100 мкл буфера для элюции в планшет для элюции.

Примечание – Допускается увеличение объема элюции в соответствии с инструкцией к набору реагентов для амплификации.

4. В отдельной пробирке смешать из расчета на один образец:
 - 10 мкл ВКО (если он предусмотрен для проведения исследования),
 - 10 мкл компонента А-1,
 - 10 мкл магнетизированной силики.

Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас (например, при экстракции из 96 образцов рекомендуется готовить смесь на 100 экстракций, т.е. с запасом на 4 образца).

Примечание – Допускается изменение объема ВКО в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

5. Внести в лунки с лизирующим раствором МС-УРО по 30 мкл тщательно ресуспендированной смеси (или 20 мкл в случае отсутствия экзогенного ВКО). В случае изменения объема ВКО вносимый объем смеси должен быть пересчитан.
6. Внести в лунки с лизирующим раствором МС-УРО и смесью **все содержимое** пробирок с лизированным клеточным

осадком и по **100 мкл контролей** (если они предусмотрены для проведения исследования) согласно маркировке.

7. Выбрать протокол экстракции, установить в прибор подготовленные планшеты и планшет с гребенкой согласно протоколу и указателям расстановки.
8. Запустить протокол экстракции ДНК.
9. При необходимости по окончании экстракции планшет для элюции, содержащий очищенную ДНК, заклеить самоклеящейся пленкой.

Хранение очищенной ДНК

Очищенная ДНК может храниться:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 недели,
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение года.

При экстракции вручную для хранения очищенной ДНК необходимо, не захватывая осадок, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

При автоматической экстракции для хранения очищенной ДНК при минусовой температуре необходимо перенести элюат в пробирку.

СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

Срок годности. 15 мес. Комплект реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит. После вскрытия первичной упаковки реагенты должны быть использованы в течение срока годности комплекта реагентов, если в инструкции не указано иное.

Транспортирование. Комплект реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С в течение 10 сут. Транспортирование осуществлять всеми видами крытых транспортных средств.

Хранение. Реагенты после вскрытия хранить при той же температуре, что до вскрытия.

Комплект реагентов хранить при температуре от 2 до 8 °С.

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 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, дом 3А, e-mail: obtk@pcr.ru. Отзывы и предложения о продукции АмплиСенс® вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.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 комплекта реагентов, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ



Номер по каталогу



Содержимого достаточно для проведения <n> тестов



Код партии



Использовать до



Медицинское изделие для диагностики in vitro



Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде



Дата изменения



Изготовитель



Температурный диапазон



Дата изготовления



Осторожно

Всего пронумеровано,
прошнуровано и скреплено
печатью 27 листа(ов)
Директор ГБУЗ МО МОНИКИ
им.М.Ф.Владимирского
Соболев К.Э.



Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: 27
двадцать семь лист 06

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)

А.О.Лисицына





Инструкция по применению комплекта
реагентов расположена на сайте
www.amplisens.ru



Краткое руководство

комплект реагентов «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»

Форма 1 **REF** K1-22-100; **REF** K4-2181-100



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6
тел. (495) 974 9642,
e-mail: amplisens@pcr.ru

IVD

ВНИМАНИЕ! Краткое руководство предназначено для удобства работы с комплектом реагентов в лаборатории и может быть использовано только после детального ознакомления с инструкцией по применению данного комплекта реагентов.

Объем исследуемого материала:
100 мкл
Исследуемый материал:
отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки влагалища, соскоб со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ), отделяемое слизистой оболочки уретры, отделяемое (мазок, соскоб) со слизистой оболочки ротоглотки, отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки прямой кишки/анального канала, моча
Контроли:
Внутренний контроль (ВКО-FL) – в каждом образце (если требуется для проведения исследования). Для каждой группы экстрагируемых образцов – отрицательный (ОК) и положительный (ПК) контроли экстракции (если предусмотрено для проведения исследования)

Допускается изменение объемов ОКО, ПКО, объема элюции в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

В отдельной пробирке подготовить смесь:

Компонент	Объем, мкл	Обозначения
ВКО-FL (если требуется)	10x(N+K+1)	N – количество исследуемых образцов; K – количество контролей экстракции; 1 – запас на один образец
Компонент А-1	10x(N+K+1)	
Магнетизированная силика	10x(N+K+1)	

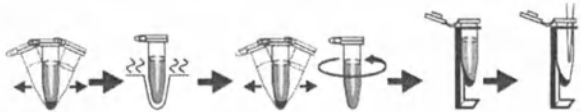
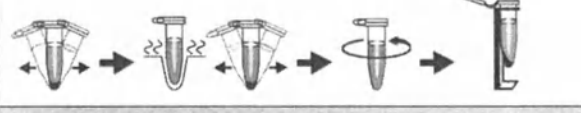
См. инструкцию к используемому набору реагентов для амплификации

Внести в пробирки:

Образец/реагент	Объем	Действие
Смесь: ВКО-FL, компонент А-1, магнетизированная силика	30 мкл или 20 мкл (если ВКО-FL не используется)	добавить в каждую пробирку
Лизирующий раствор МС-УРО	450 мкл	добавить в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 мкл	добавить в каждую пробирку для исследуемого образца
ОКО	100 мкл	добавить в пробирку для ОК
ПКО (если требуется)	100 мкл	добавить в пробирку для ПК

См. инструкцию к используемому набору реагентов для амплификации

Все пробирки с исследуемыми и контрольными образцами:

		- закрыть крышки, перемешать на вортексе; - поместить в термостат на 10 мин при 60 °С; - перемешать, осадить капли, поставить в магнитный штатив на 2 мин; - открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость
Раствор для отмывки 4	200 мкл	добавить в каждую пробирку
		- закрыть крышки, ресуспендировать на вортексе, осадить капли; - поставить в магнитный штатив на 1 мин; - открыть крышки, удалить надосадочную жидкость; - высушить осадок 5 мин при 60 °С (допускается увеличение времени до 10 мин)
Буфер для элюции В	100 мкл	добавить в каждую пробирку
		- закрыть крышки, перемешать на вортексе; - поместить в термостат на 5 мин при 60 °С, через 2 мин перемешать на вортексе; - осадить капли, поставить в магнитный штатив на 2 мин

Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК осуществляется, не снимая пробирки с магнитного штатива.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АВТОМАТИЧЕСКИХ СТАНЦИЙ

Экстракция с помощью магнитоперемешивающих станций (например, Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., Китай), KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific Oy, Финляндия), Nexor 96 (Yantai Addcare Bio-Tech Co., Ltd., Китай)).

Для экстракции следует использовать только протоколы, расположенные на сайте amplisens.ru.

Внести в лунки планшетов:

Реагент	Объем	Действие
Лизирующий раствор MC-УРО	450 мкл	в планшет с глубокими лунками
Раствор для отмывки 4	200 мкл	в планшет с глубокими лунками
Буфер для элюции В	100 мкл	в планшет для элюции

В отдельной пробирке подготовить смесь:

Компонент	Объем, мкл	Обозначения	
ВКО-FL (если предусмотрено)	10x(N+K+1)	N – количество исследуемых образцов; K – количество контролей экстракции; 1 – запас на один образец	См. инструкцию к используемому набору реагентов для амплификации
Компонент А-1	10x(N+K+1)		
Магнетизированная силика	10x(N+K+1)		

Внести в лунки планшета с лизирующим раствором MC-УРО:

Образец/реагент	Объем	Действие	
Смесь: ВКО-FL, компонент А-1, магнетизированная силика	30 мкл или 20 мкл (если ВКО-FL не используется)	добавить во все лунки	См. инструкцию к используемому набору реагентов для амплификации
Исследуемые образцы	100 мкл	добавить в лунки для исследуемых образцов	
ОКО	100 мкл	добавить в лунки для ОК	
ПКО (если предусмотрено)	100 мкл	добавить в лунки для ПК	

Установить планшеты в прибор, запустить экстракцию ДНК

По завершении экстракции планшет для элюции содержит очищенную ДНК

Экстракция с помощью пипетирующих станций (например, (например, MicroLab STARlet (Hamilton Bonaduz AG, Швейцария), Xiril (Neon 100 series) (Xiril AG, Швейцария)).

ВНИМАНИЕ! Экстракция с помощью пипетирующих станций проводится только для отделяемого (мазок, соскоб) слизистой оболочки влагалища, соскоба со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ), отделяемого слизистой оболочки уретры, мочи

На рабочем столе станции:

Реагент	Действие		
ВКО (если предусмотрено)	Расставить пробирки		
Компонент А-1			
Магнетизированная силика			
Лизирующий раствор MC-УРО	Налить в контейнеры		
Раствор для отмывки 4			
Буфер для элюции В			
Образец/реагент	Объем	Действие	
Исследуемые образцы	не менее 100 мкл	расставить пробирки	См. инструкцию к используемому набору реагентов для амплификации
ОКО	не менее 150 мкл	добавить в пробирку для ОК	
ПКО (если предусмотрено)	не менее 150 мкл	добавить в пробирку для ПК	

Запустить экстракцию НК

По завершении экстракции пробирки/планшет для элюции содержат очищенную ДНК



Инструкция по применению комплекта
реагентов расположена на сайте
www.amplisens.ru



Краткое руководство

комплект реагентов «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»

Форма 2 **REF** K4-2182-100



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора,
Российская Федерация, 111123,
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А
г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, стр. 6
тел. (495) 974 9642,
e-mail: amplisens@pcr.ru

IVD

ВНИМАНИЕ! Краткое руководство предназначено для удобства работы с комплектом реагентов в лаборатории и может быть использовано только после детального ознакомления с инструкцией по применению данного комплекта реагентов.

Объем исследуемого материала:

Около 100 мкл лизированного клеточного осадка

Исследуемый материал:

Соскоб со слизистой оболочки цервикального канала, взятый в транспортно-фиксирующую спиртосодержащую среду для жидкостной цитологии

Контроли:

Внутренний контроль (ВКО) – в каждом образце (если предусмотрено для проведения исследования).
Для каждой группы экстрагируемых образцов – отрицательный (ОК) и положительный (ПК) контроли экстракции (если предусмотрено для проведения исследования)

Допускается изменение объемов ВКО, ОК, ПК, объема элюции в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ, ОТМЫВКА И ЛИЗИС ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Концентрирование эпителиальных клеток

Способ первый



- образец интенсивно встряхнуть;
- оставить на **30 мин при 18-25 °C**;
- перенести 1 мл осадка в новую пробирку;
- центрифугировать **5 мин при 12 тыс g**;
- удалить надосадочную жидкость, оставив **не более 100 мкл** осадка с надосадочной жидкостью

Способ второй



- образец интенсивно встряхнуть;
- перенести 1,0-2,0 мл клеточной взвеси в новую пробирку;
- центрифугировать **5 мин при 12 тыс g**;
- удалить надосадочную жидкость, оставив **не более 100 мкл** осадка с надосадочной жидкостью

Отмывка и лизис эпителиальных клеток:

Образец/реагент	Объем	Действие	
МУКОЛИЗИН	1000 мкл	добавить в каждую пробирку	при наличии слизи в образцах
		- закрыть крышки, перемешать на вортексе; - поставить пробирки в штатив на 30 мин (если видна нерастворившаяся слизь, перемешать на вортексе и поставить в штатив еще на 10-15 мин); - центрифугировать 2 мин при 10 тыс g; - удалить надосадочную жидкость, оставив 100-200 мкл осадка	
PBS-буфер	1000 мкл	добавить в каждую пробирку	
		- закрыть крышки, перемешать на вортексе; - центрифугировать 2 мин при 10 тыс g; - удалить надосадочную жидкость	
Цитолизин	100 мкл	добавить в каждую пробирку	
		- ресуспендировать пипетированием; - закрыть крышки, перемешать на вортексе; - инкубировать 1 ч при 60 °C	

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ЛИЗИРОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ОСАДКОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МАГНИТНЫХ ШТАТИВОВ ВРУЧНУЮ

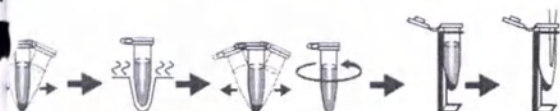
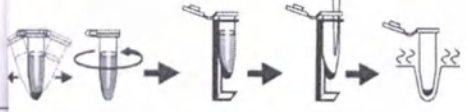
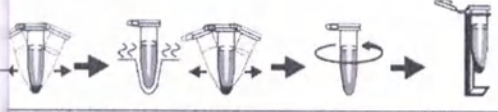
В отдельной пробирке подготовить смесь:

Компонент	Объем, мкл	Обозначения	
ВКО (если предусмотрено)	10x(N+K+1)	N – количество исследуемых образцов; K – количество контролей экстракции; 1 – запас на один образец	См. инструкцию к используемому набору реагентов для амплификации
Компонент А-1	10x(N+K+1)		
Магнетизированная силика	10x(N+K+1)		

Внести в пробирки:

Образец/реагент	Объем	Действие	
Смесь: ВКО, компонент А-1, магнетизированная силика	30 мкл или 20 мкл (если ВКО не используется)	добавить в пробирки с лизированным клеточным осадком и в пробирки для ОК и ПК	См. инструкцию к используемому набору реагентов для амплификации
Лизирующий раствор МС-УРО	450 мкл	добавить в пробирки с лизированным клеточным осадком и в пробирки для ОК и ПК	
ВКО	100 мкл	добавить в пробирку для ОК	
ВКО (если предусмотрено)	100 мкл	добавить в пробирку для ПК	

Все пробирки с исследуемыми и контрольными образцами:

		- закрыть крышки, перемешать на вортексе; - поместить в термостат на 10 мин при 60 °С; - перемешать, осадить капли, поставить в магнитный штатив на 2 мин; - открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость
Раствор для отмывки 4	200 мкл	добавить в каждую пробирку
		- закрыть крышки, ресуспендировать на вортексе, осадить капли; - поставить в магнитный штатив на 1 мин; - открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость; - высушить осадок 5 мин при 60 °С (допускается увеличение времени до 10 мин)
Буфер для элюции В	100 мкл	добавить в каждую пробирку
		- закрыть крышки, перемешать на вортексе; - поместить в термостат на 5 мин при 60 °С, через 2 мин перемешать на вортексе; - осадить капли, поставить в магнитный штатив на 2 мин

надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенной ДНК осуществляется, не снимая пробирок с магнитного штатива.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ЛИЗИРОВАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ ОСАДКОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ АВТОМАТИЧЕСКИХ СТАНЦИЙ

Экстракция с помощью магнитоперемешивающих станций (например, Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., Китай), KingFisher Flex (Thermo Fisher Scientific Oy, Финляндия), Nexor 96 (Yantai Addcare Bio-Tech Co., Ltd., Китай)).

Для экстракции следует использовать только протоколы, расположенные на сайте amplisens.ru.

Внести в лунки планшетов:

Реагент	Объем	Действие
Лизирующий раствор МС-УРО	450 мкл	в планшет с глубокими лунками
Раствор для отмывки 4	200 мкл	в планшет с глубокими лунками
Буфер для элюции В	100 мкл	в планшет для элюции

В отдельной пробирке подготовить смесь:

Компонент	Объем, мкл	Обозначения	
ВКО (если предусмотрено)	10x(N+K+1)	N – количество исследуемых образцов; K – количество контролей экстракции; 1 – запас на один образец	<i>См. инструкцию к используемому набору реагентов для амплификации</i>
Компонент А-1	10x(N+K+1)		
Магнетизированная силика	10x(N+K+1)		

Внести в лунки планшета с лизирующим раствором МС-УРО:

Образец/реагент	Объем	Действие	
Смесь: ВКО, компонент А-1, магнетизированная силика	30 мкл или 20 мкл (если ВКО не используется)	добавить во все лунки	<i>См. инструкцию к используемому набору реагентов для амплификации</i>
Исследуемые образцы	весь объем лизированного клеточного осадка	добавить в лунки для исследуемых образцов	
ОКО	100 мкл	добавить в лунки для ОК	
ПКО (если предусмотрено)	100 мкл	добавить в лунки для ПК	

Установить планшеты в прибор, запустить экстракцию ДНК

По завершении экстракции планшет для элюции содержит очищенную ДНК

КОПИЯ ВЕРНА

Прошито, пронумеровано и скреплено печатью: пять лист об 5

Руководитель службы регистрации медицинских изделий
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
(Доверенность № 188/23 от 16.11.2023 г.)

« 02 » 10 2024 г.
м.п. А.О.Лисицына

