

«УТВЕРЖДАЮ»

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



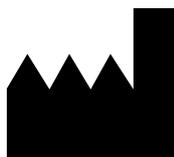
В.Г. Акимкин

«27» сентября 2024 г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

комплекта реагентов для экстракции РНК/ДНК
из биологического материала
«МАГНО-сорб»

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.....	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/РНК	10
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	10
ФОРМА 1: «МАГНО-сорб» вариант 100-200	13
СОСТАВ	13
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	13
Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную (форма 1)	13
Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот (форма 1)	16
Хранение очищенных НК	18
ФОРМА 2: «МАГНО-сорб» вариант 100-1000	20
СОСТАВ	20
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	20
Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную (форма 2)	20
Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот (форма 2)	23
Хранение очищенных НК	25
ФОРМА 3: «МАГНО-сорб» вариант 100-100М	27
СОСТАВ	27
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	27
Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную (форма 3)	27
Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот (форма 3)	30
Хранение очищенных НК	31
ФОРМА 4: «МАГНО-сорб» вариант 100-200М. ФОРМА 5: «МАГНО- сорб» вариант 5000-200М	33
СОСТАВ	33
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ.....	33
Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную (форма 4, форма 5).....	34
Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот (форма 4, форма 5).....	36
Хранение очищенных НК	38
СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.....	39
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ	40
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ.....	41

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

БАЛ	– бронхо-альвеолярный лаваж
ВКО	– внутренний контрольный образец
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
МАНК	– методы амплификации нуклеиновых кислот
НК	– нуклеиновые кислоты
ОК	– отрицательный контроль экстракции
ОКО	– отрицательный контрольный образец
ОТ	– обратная транскрипция
ПВБ	– промывные воды бронхов
ПК	– положительный контроль экстракции
ПКО	– положительный контрольный образец
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РНК	– рибонуклеиновая кислота
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 «МАГНО-сорб» предназначен для экстракции РНК/ДНК из биологического материала и объектов окружающей среды для последующего исследования методами амплификации нуклеиновых кислот (МАНК):

- плазма крови,
- цельная кровь,
- спинномозговая жидкость (ликвор),
- отделяемое конъюнктивы,
- слюна,
- мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки,
- мокрота/аспират из зева,
- бронхо-альвеолярный лаваж (БАЛ)/промывные воды бронхов (ПВБ),
- плевральная/асцитическая жидкость,
- гной/содержимое некротического характера,
- тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) нативный материал,
- тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) материал в парафиновых блоках,
- отделяемое (мазок, соскоб) слизистых оболочек уrogenитального тракта,

- моча,
- фекалии,
- фекальный/ректальный мазок (соскоб),
- суспензия клещей,
- культуры микроорганизмов,
- концентраты образцов воды,
- смывы с объектов окружающей среды.

Показания и противопоказания к применению комплекта реагентов

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

Потенциальные пользователи медицинского изделия

К работе с комплектом реагентов допускаются только медицинские работники, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»).

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 нуклеиновых кислот (НК). Растворенные НК связываются 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 НК в раствор с поверхности сорбента, который затем отделяется от раствора НК магнитной силой.

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

ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ

Форма 1: «МАГНО-сорб» вариант 100-200

Форма 2: «МАГНО-сорб» вариант 100-1000

Форма 3: «МАГНО-сорб» вариант 100-100M

Форма 4: «МАГНО-сорб» вариант 100-200M

Форма 5: «МАГНО-сорб» вариант 5000-200M

Краткое описание форм комплектации приведено в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика	Форма 1	Форма 2	Форма 3	Форма 4	Форма 5
Число исследуемых образцов, включая контроли	100	100	100	100	5000
Объем исследуемого материала, мкл	200	1000	100	200	200
Биологический материал, рекомендуемый для исследования	плазма крови, цельная кровь, спинномозговая жидкость (ликвор), мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мокрота/аспират из зева, БАЛ/ПВБ, отделяемое (мазок, соскоб) слизистых оболочек урогенитального тракта, моча, суспензии клещей, концентраты образцов воды	плазма крови, спинномозговая жидкость (ликвор), моча, концентраты образцов воды	плазма крови, мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки мокрота/аспират из зева, БАЛ/ПВБ, Тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) нативный материал, фекальный/ ректальный мазок (соскоб)	плазма крови, цельная кровь, спинномозговая жидкость (ликвор), отделяемое конъюнктивы, слюна, мазки со слизистой носо- и ротоглотки, мокрота/аспират из зева, БАЛ/ПВБ, плевральная/асцитическая жидкость, гной/содержимое некротического характера, тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) нативный материал, тканевой материал (биопсийный, операционный, аутопсийный) в парафиновых блоках, моча, фекалии, фекальный/ректальный мазок, суспензия клещей, культуры микроорганизмов, концентраты образцов воды, смывы с объектов окружающей среды	

Допускается экстракция НК из других видов биологического материала и объемов исследуемого образца, в соответствии с инструкцией к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил 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 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».

Комплект реагентов предназначен для однократного применения для проведения экстракции РНК/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 и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности комплект реагентов безопасен.

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

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

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

1. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
2. Одноразовые полипропиленовые или полистирольные пробирки объемом 5 мл диаметром 12 мм, круглодонные (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) – при использовании формы 2.
3. Одноразовые полипропиленовые крышки для пробирок объемом 5 мл диаметром 12 мм (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) – при использовании формы 2.
4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 200 мкл, до 1000 мкл и до 5000 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
5. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 и до 1000 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
6. Штативы для пробирок (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
7. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл (например, «Синтол», Россия).
8. Магнитный штатив для пробирок объемом 5 мл, диаметром 12 мм (например, Promega, США, или аналогичный) – при использовании формы 2.
9. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А (например, «БВп-01-«Ламинар-С»-1,2», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный).
10. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
11. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С

- (например, SIA BioSan, Латвия, или аналогичный).
12. Термостат для пробирок объемом 5 мл, диаметром 12 мм, с температурой от 25 до 100 °С (например, SIA BioSan, Латвия, или аналогичный) – при использовании формы 2.
 13. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1», ООО «Утес», Россия, или аналогичный).
 14. Автоматические одноканальные дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
 15. Холодильник от 2 до 8 °С.
 16. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
 17. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

При использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот:

18. Автоматическая станция для экстракции НК открытого типа: (например, Auto-Pure 96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., Китай), KingFisher Flex (Thermo FS (Termo Fisher Scientific) («Термо Фишер Сайентифик»), Финляндия), NEON 100 (Xiril AG, Швейцария), MicroLab STARlet (Hamilton Bonaduz AG, Швейцария) и другие, рекомендованные Изготовителем).
19. Набор расходных материалов к используемой автоматической станции в соответствии с рекомендациями производителя, в том числе для магнитоперемешивающей станции:
 - 96-луночные гребенки наконечников – при использовании форм 1, 3, 4, 5 или 24-луночные гребенки наконечников – при использовании формы 2;
 - 96-луночные планшеты с глубокими лунками – при использовании форм 1, 3, 4, 5 или 24-луночные планшеты с глубокими лунками – при использовании формы 2;
 - 96-луночный планшет для элюции – при использовании форм 1, 3, 4, 5;
 - Самоклеящаяся пленка для планшетов, стерильная.
20. Одноразовые полипропиленовые или полистирольные пробирки объемом от 1,5 до 5 мл с крышками (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) –

для приготовления требуемого объема смеси магнетизированной силики.

21. Одноразовые наконечники с фильтрами для дозаторов переменного объема до 100 мкл (например, Axugen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
22. Одноразовые наконечники с фильтрами для дозаторов переменного объема до 1000, до 5000 мкл (например, Biofil, «Гуанчжоу Джет Био-Филтрэйшн Ко., Лтд.», Китай, или аналогичные).
23. Автоматические одноканальные дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
24. Автоматические 8-канальный дозатор переменного объема (например, «Эппендорф», США, или аналогичные).
25. Резервуары (ванночки) для заполнения 8-канальных дозаторов (например, SPL LifeScience Co, Ю. Корея, или аналогичные).

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

Информацию о порядке взятия, условиях транспортирования и хранения исследуемого материала, необходимости и порядке его подготовки к экстракции РНК/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 биологического материала	Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Концентрация в образце	Наличие интерференции
Слюна, мазки со слизистой оболочки носоглотки, отделяемое (мазок, соскоб) слизистых оболочек урогенитального тракта	Экзогенные вещества	Водный раствор хлоргексидина биглюконата	2,5 %	Не обнаружено
Слюна, мазки со слизистой оболочки носоглотки, мокрота/аспират из зева, БАЛ/ПВБ, фекальные/ректальные мазки (соскобы), отделяемое (мазок, соскоб) слизистых оболочек урогенитального тракта	Эндогенные вещества	Муцин	9 мг/мл	Не обнаружено
Плазма крови, слюна, мазки со слизистой оболочки носоглотки, БАЛ/ПВБ, тканевой (аутопсийный) нативный материал, фекальные/ректальные мазки (соскобы), отделяемое (мазок, соскоб) слизистых оболочек урогенитального тракта	Эндогенные вещества	Гемоглобин	0,21 г/мл	Не обнаружено
Мокрота/аспират из зева, БАЛ/ПВБ, моча, плевральная/асцитическая жидкость, гной/содержимое некротического характера, фекалии, спинномозговая жидкость (ликвор)	Экзогенные вещества	Рифампицин	9-17,5 мкг/мл	Не обнаружено
		Изониазид	3-7 мкг/мл	Не обнаружено
		Этамбутол	2-5 мкг/мл	Не обнаружено
		Пиразинамид	39 мкг/мл	Не обнаружено
		Офлоксацин	5,2 мкг/мл	Не обнаружено
		Канамицин	22 мкг/мл	Не обнаружено
		ПАСК	75 мкг/мл	Не обнаружено
Циклосерин	25-30 мкг/мл	Не обнаружено		

Вид биологического материала	Вид потенциального интерферента	Потенциальный интерферент	Концентрация в образце	Наличие интерференции
Тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) материал в парафиновых блоках	Экзогенные вещества	Формалин кислый	—	<u>Обнаружено</u>
		формалин забуференный	—	Не обнаружено
Мокрота/аспират из зева, БАЛ/ПВБ, моча, плевральная/асцитическая жидкость, гной/содержимое некротического характера, фекалии, спинномозговая жидкость (ликвор)	Эндогенные вещества	Кровь	Соотношение образец : кровь 1:1	Не обнаружено
Цельная кровь	Эндогенные вещества	Гемоглобин	250 г/л	Не обнаружено
		Общий билирубин	210 мкмоль/л	Не обнаружено
		Общий холестерин	78 ммоль/л	Не обнаружено
		Триглицериды	37,0 ммоль/л	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Литий гепарин	12-30 МЕ/мл	<u>Обнаружено</u>
		Калий ЭДТА	2,0 мкг/мл	Не обнаружено
Отделяемое конъюнктивы	Экзогенные вещества	Дикаин®	0,003%	Не обнаружено
Отделяемое (мазок, соскоб) слизистых оболочек уrogenитального тракта	Эндогенные вещества	Лактоферрин	5 мкг/мл	Не обнаружено
Отделяемое (мазок, соскоб) слизистых оболочек уrogenитального тракта	Эндогенные вещества	Гликоген	120 мг/мл	Не обнаружено
Отделяемое (мазок, соскоб) слизистых оболочек уrogenитального тракта	Экзогенные вещества	Клотримазол, Метронидазол, Мирамистин, Полижинакс, Макмирор комплекс, «Contex Silk», интимный гель-смазка силиконовый	16 % (объем препарата к объему исследуемого образца)	Не обнаружено

ФОРМА 1: «МАГНО-сорб» вариант 100-200

СОСТАВ

Таблица 3

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий раствор МАГНО-сорб	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ²	107	1 флакон
Компонент А	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка
Раствор для отмывки 5	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ²	75	2 флакона
Раствор для отмывки 6	Прозрачная бесцветная жидкость	87	1 флакон
Раствор для отмывки 7	Прозрачная бесцветная жидкость	35	1 флакон
Магнетизированная силика	Суспензия магнитных частиц	1,0	2 пробирки
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1,25	8 пробирок

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Объем исследуемого материала – 200 мкл.

Исследуемый материал – плазма крови, цельная кровь, спинномозговая жидкость (ликвор), мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мокрота/аспира́т из зева, БАЛ/ПВБ, отделяемое (мазок, соскоб) слизистых оболочек урогенитального тракта, моча, суспензии клещей, концентраты образцов воды.

ВНИМАНИЕ! Для работы с РНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.

ВНИМАНИЕ! Лизирующий раствор МАГНО-сорб имеет неприятный запах. Работу проводить в ламинарном боксе.

Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную (форма 1)

1. Лизирующий раствор МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5, при наличии осадка, прогреть при температуре 60 °С до

² При хранении лизирующего раствора и раствора для отмывки 5 при температуре ниже 20 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

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** (если он предусмотрен для проведения исследования), **10 мкл компонента А** и **20 мкл магнетизированной силики**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас, например:

Количество образцов для экстракции РНК/ДНК	ВКО, мкл	Компонент А, мкл	Магнетизированная силика, мкл
6	70	70	140
12	130	130	260
18	190	190	380
24	250	250	500

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

4. Внести в пробирки по **40 мкл** тщательно ресуспендированной смеси ВКО, компонента А и магнетизированной силики (в случае изменения объема ВКО, вносимый объем смеси должен быть пересчитан).
5. Внести в пробирки по **900 мкл лизирующего раствора МАГНО-сорб**.
6. Добавить в каждую пробирку с лизирующим раствором **200 мкл исследуемого образца** и перемешать на вортексе.
7. В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести **200 мкл ОКО**, в пробирку положительного контроля экстракции (ПК) внести **200 мкл соответствующего ПКО** (если они предусмотрены для проведения исследования). Плотно 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 **700 мкл раствора для отмывки 5**, 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 **2 мин.**

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

15. Повторить отмывку **700 мкл раствора для отмывки 5** (пп. 11-14).

16. Аналогично провести одну отмывку **700 мкл раствора для отмывки 6**.

17. Добавить в пробирки по **200 мкл раствора для отмывки 7**, перемешать на вортексе, а затем осадить капли кратким центрифугированием.

18. Поместить пробирки в магнитный штатив на **1 мин**, затем открыть крышки, осторожно удалить надосадочную жидкость.

19. Высушить магнетизированную силику, оставив пробирки с открытыми крышками на магнитном штативе в течение **10-20 мин.**

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

Примечание – Допускается изменение объема элюции в

соответствии с инструкцией к набору реагентов для амплификации.

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

22. Осадить капли кратким центрифугированием и переставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных РНК/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 FS, Финляндия), 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 МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5, 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 **760 мкл** лизирующего раствора МАГНО-сорб в планшет с глубокими лунками,
 - по **700 мкл** раствора для отмывки 5 в два планшета с глубокими лунками,
 - по **700 мкл** раствора для отмывки 6 в планшет с глубокими лунками,

- по **200 мкл** раствора для отмывки 7 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,
- **20 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 МАГНО-сорб по **40 мкл** тщательно ресуспендированной смеси (в случае изменения объема ВКО, вносимый объем смеси должен быть пересчитан).

6. Внести в лунки с лизирующим раствором МАГНО-сорб и смесью по **200 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 подсказкам/указателям расстановки.

8. Запустить протокол экстракции НК.

9. При необходимости по окончании экстракции планшет для элюции, содержащий очищенные НК, заклеить самоклеящейся пленкой.

Экстракция с помощью пипетирующих станций (например, NEON 100 (Xiril AG, Швейцария), MicroLab STARlet (Hamilton Bonaduz AG, Швейцария или аналогичные)

1. Отобрать необходимое количество и расставить на рабочем столе станции расходные материалы:

- наконечники, пробирки/планшеты для элюции.
2. Лизирующий раствор МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5, 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, буфером для элюции и магнетизированной силикой** на рабочем столе станции.
 4. Налить **лизирующий раствор МАГНО-сорб, раствор для отмывки 5, раствор для отмывки 6 и раствор для отмывки 7** 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 ОК** 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 очищенных НК

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.

Очищенная РНК может храниться:

- при температуре от 2 до 8 °С – до 4 ч;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 мес;

– при температуре не выше минус 68 °С – в течение года.

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

При автоматической экстракции, для хранения очищенных НК при минусовой температуре необходимо перенести элюат в пробирки.

ФОРМА 2: «МАГНО-сорб» вариант 100-1000

СОСТАВ

Таблица 4

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий раствор МАГНО-сорб	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ³	90	3 флакона
Компонент А-2	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	2 пробирки
Раствор для отмывки 5	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ³	75	2 флакона
Раствор для отмывки 6	Прозрачная бесцветная жидкость	87	1 флакон
Раствор для отмывки 7	Прозрачная бесцветная жидкость	35	1 флакон
Магнетизированная силика	Суспензия магнитных частиц	1,5	2 пробирки
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1,25	8 пробирок

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Объем исследуемого материала – 1000 мкл.

Исследуемый материал – плазма крови, спинномозговая жидкость (ликвор), моча, концентраты образцов воды.

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

ВНИМАНИЕ! Для работы с РНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.

ВНИМАНИЕ! Лизирующий раствор МАГНО-сорб имеет неприятный запах. Работу проводить в ламинарном боксе.

Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную (форма 2)

1. Лизирующий раствор МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5, при наличии осадка, прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов,

³ При хранении лизирующего раствора и раствора для отмывки 5 при температуре ниже 20 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

- магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.
2. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 5 мл и одноразовых крышек (включая контроли, если они предусмотрены для проведения исследования) и промаркировать их.
 3. В отдельной пробирке смешать из расчета на один образец: **10 мкл ВКО** (если он предусмотрен для проведения исследования), **20 мкл компонента А-2** и **30 мкл магнетизированной силики**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас, например:

Количество образцов для экстракции РНК/ДНК	ВКО, мкл	Компонент А-2, мкл	Магнетизированная силика, мкл
6	70	140	210
12	130	260	390
18	190	380	570
24	250	500	750

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

4. Внести в пробирки объемом 5 мл по **60 мкл** тщательно ресуспендированной смеси ВКО, компонента А-2 и магнетизированной силики (в случае изменения объема ВКО, вносимый объем смеси должен быть пересчитан).
5. Внести в пробирки по **2,6 мл лизирующего раствора МАГНО-сорб**.
6. Добавить в каждую пробирку с лизирующим раствором **1 мл исследуемого образца**, перемешать пипетированием, закрыть крышкой.
7. В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести **1 мл ОКО**, в пробирку положительного контроля экстракции (ПК) внести **1 мл соответствующего ПКО** (если они предусмотрены для проведения исследования). Перемешать пипетированием, плотно закрыть крышки.

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 °С** на **10 мин**.

9. Открыть крышки, поставить пробирки в магнитный штатив на **6 мин.**
10. Не извлекая пробирки из магнитного штатива, осторожно удалить надосадочную жидкость по внутренней стенке пробирки, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 1000 мкл для каждой пробы. Перенести пробирки в обычный штатив.
11. Добавить в пробирки по **700 мкл раствора для отмывки 5**, закрыть крышки.
12. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая контроли) и промаркировать их.
13. Смыть магнетизированную силику со стенок осторожным перемешиванием на вортексе, а затем пипетированием, и перенести все содержимое в приготовленные пробирки объемом 1,5 мл.
14. Поместить пробирки объемом 1,5 мл 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.

15. Осторожно удалить надосадочную жидкость как описано выше.

16. Добавить в пробирки по **700 мкл раствора для отмывки 5**, закрыть крышки.

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

17. Ресуспендировать магнетизированную силику перемешиванием на вортексе, затем осадить капли кратким центрифугированием и повторить пп. 14-15.

18. Аналогично провести одну отмывку **700 мкл раствора для отмывки 6**.

19. Добавить в пробирки по **200 мкл раствора для отмывки 7**, перемешать, а затем осадить капли кратким центрифугированием.

20. Поместить пробирки в магнитный штатив на **1 мин**, затем осторожно удалить надосадочную жидкость.

21. Высушить магнетизированную силику, оставив пробирки с открытыми крышками на магнитном штативе в течение **10-**

20 мин.

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

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

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

24. Осадить капли кратким центрифугированием и переставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных РНК/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, KingFisher Flex (Thermo FS, Финляндия), или аналогичные).

Для экстракции следует использовать только протокол, расположенный на сайте amplisens.ru.

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

1. Лизирующий раствор МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5, при наличии осадка, прогреть при температуре 60 °С до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на вортексе.

2. Отобрать необходимое количество 24-луночных планшетов (см. п. 3), совместимых с прибором, промаркировать в соответствии с протоколом.

3. Внести в планшеты согласно маркировке и числу экстрагируемых проб:

– по **2,6 мл** лизирующего раствора МАГНО-сорб в планшет с глубокими лунками,

– по **700 мкл** раствора для отмывки 5 в два планшета с

- глубокими лунками,
- по **700 мкл** раствора для отмывки 6 в планшет с глубокими лунками,
- по **200 мкл** раствора для отмывки 7 в планшет с глубокими лунками,
- по **100 мкл** буфера для элюции в планшет с глубокими лунками.

Примечание – Допускается изменение 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),
- **20 мкл** компонента А-2,
- **30 мкл** магнетизированной силики.

Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас (например, при экстракции из 24 образцов рекомендуется готовить смесь на 26 экстракций, т.е. с запасом на 2 образца).

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

5. Внести в лунки с лизирующим раствором МАГНО-сорб по **60 мкл** тщательно ресуспендированной смеси (в случае изменения объема ВКО, вносимый объем смеси должен быть пересчитан).
6. Внести в лунки с лизирующим раствором МАГНО-сорб и смесью по **1 мл 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 подсказкам/указателям расстановки.
8. Запустить протокол экстракции НК.
9. При необходимости по окончании экстракции планшет для элюции, содержащий очищенные НК, заклеить самоклеящейся пленкой.

Экстракция с помощью пипетирующих станций (например,

NEON 100 (Xiril AG, Швейцария), MicroLab STARlet (Hamilton Bonaduz AG, Швейцария), или аналогичные).

1. Отобрать необходимое количество и расставить на рабочем столе станции расходные материалы: наконечники, пробирки/планшеты для элюции.
2. Лизирующий раствор МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5, 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-2, буфером для элюции и магнетизированной силикой** на рабочем столе станции.
4. Налить **лизирующий раствор МАГНО-сорб, раствор для отмывки 5, раствор для отмывки 6 и раствор для отмывки 7** 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 ОК** и **не менее 150 мкл** соответствующего **ПКО** (если они предусмотрены для проведения исследования).

Примечание – Допускается изменение объемов и разведения ОК 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 очищенных НК

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.

Очищенная РНК может храниться:

- при температуре от 2 до 8 °С – до 4 ч;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 мес;
- при температуре не выше минус 68 °С – в течение года.

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

При автоматической экстракции, для хранения очищенных НК при минусовой температуре необходимо перенести элюат в пробирку.

ФОРМА 3: «МАГНО-сорб» вариант 100-100М

СОСТАВ

Таблица 5

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий раствор МАГНО-сорб	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ⁴	40	1 флакон
Компонент А	Прозрачная бесцветная жидкость	0,5	1 пробирка
Раствор для отмывки 5	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ⁴	60	1 флакон
Раствор для отмывки 4	Прозрачная бесцветная жидкость	60	1 флакон
Магнетизированная силика	Суспензия магнитных частиц	1,0	1 пробирка
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1,25	8 пробирок

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Объем исследуемого материала – 100 мкл.

Исследуемый материал – плазма крови, мазки со слизистой оболочки носо- и ротоглотки, мокрота/аспират из зева, БАЛ/ПВБ, тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) нативный материал, фекальный/ректальный мазок (соскоб).

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

ВНИМАНИЕ! Для работы с РНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.

ВНИМАНИЕ! Лизирующий раствор МАГНО-сорб имеет неприятный запах. Работу проводить в ламинарном боксе.

Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную (форма 3)

1. Лизирующий раствор МАГНО-сорб и раствор для

⁴ При хранении лизирующего раствора и раствора для отмывки 5 при температуре ниже 20 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

- отмывки 5, при наличии осадка, прогреть при температуре 60 °С 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** (если он предусмотрен для проведения исследования), **5 мкл компонента А** и **10 мкл магнетизированной силики**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас, например:

Количество образцов для экстракции РНК/ДНК	ВКО, мкл	Компонент А, мкл	Магнетизированная силика, мкл
6	70	35	70
12	130	65	130
18	190	95	190
24	250	125	250

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

4. Внести в пробирки по **25 мкл** тщательно ресуспендированной смеси ВКО, компонента А и магнетизированной силики (в случае изменения объема ВКО, вносимый объем смеси должен быть пересчитан).
5. Внести в пробирки по **300 мкл лизирующего раствора МАГНО-сорб**.
6. Добавить в каждую пробирку с лизирующим раствором **100 мкл исследуемого образца** и перемешать на вортексе.
7. 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). Плотно 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 °С** на **10 мин.**

9. Перемешать содержимое пробирок, кратким центрифугированием осадить капли. Поставить пробирки в магнитный штатив на **5 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 без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

11. Добавить в пробирки по **500 мкл раствора для отмывки 5**, 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 **5 мин.**

14. Удалить надосадочную жидкость как описано выше.

15. Добавить в пробирки по **500 мкл раствора для отмывки 4**, закрыть крышки.

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

17. Поставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин.**

18. Полностью удалить надосадочную жидкость как описано выше.

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

20. Добавить в пробирки по **100 мкл буфера для элюции**,

закрывать крышки и перемешать на вортексе.

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

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

22. Осадить капли кратким центрифугированием и переставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных РНК/ДНК осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот (форма 3)

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 FS, Финляндия), 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 МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5, 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 **300 мкл** лизирующего раствора МАГНО-сорб в планшет с глубокими лунками,
 - по **500 мкл** раствора для отмывки 5 в планшет с глубокими лунками,

- по **500 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),
- **5 мкл** компонента А,
- **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 МАГНО-сорб по **25 мкл** тщательно ресуспендированной смеси (в случае изменения объема ВКО, вносимый объем смеси должен быть пересчитан).

6. Внести в лунки с лизирующим раствором МАГНО-сорб 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 подсказкам/указателям расстановки.

8. Запустить протокол экстракции НК.

9. При необходимости по окончании экстракции планшет для элюции, содержащий очищенные НК, заклеить самоклеящейся пленкой.

Хранение очищенных НК

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.

Очищенная РНК может храниться:

- при температуре от 2 до 8 °С – до 4 ч;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 мес;
- при температуре не выше минус 68 °С – в течение года.

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

При автоматической экстракции, для хранения очищенных НК при минусовой температуре необходимо перенести элюат в пробирку.

ФОРМА 4: «МАГНО-сорб» вариант 100-200М
ФОРМА 5: «МАГНО-сорб» вариант 5000-200М

СОСТАВ

Таблица 6

Реагент	Описание	«МАГНО-сорб» вариант 100-200М		«МАГНО-сорб» вариант 5000-200М	
		Объем, мл	Количество	Объем, мл	Количество
Лизирующий раствор МАГНО-сорб	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ⁵	70	1 флакон	3000	1 флакон
Компонент А	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	1 пробирка	65	1 флакон
Раствор для отмывки 5	Прозрачная жидкость от бесцветного до жёлтого или розового цвета ⁵	60	1 флакон	2500	1 флакон
Раствор для отмывки 4	Прозрачная бесцветная жидкость	60	1 флакон	2500	1 флакон
Магнетизиру- ванная силика	Суспензия магнитных частиц	1,0	2 пробирки	100	1 флакон
Буфер для элюции	Прозрачная бесцветная жидкость	1,25	8 пробирок	500	1 флакон

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК/РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Объем исследуемого материала – 200 мкл.

Исследуемый материал – плазма крови, цельная кровь, спинномозговая жидкость (ликвор), отделяемое конъюнктивы, слюна, мазки со слизистой носо- и ротоглотки, мокрота/аспират из зева, БАЛ/ПВБ, плевральная/асцитическая жидкость, гной/содержимое некротического характера, тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) нативный материал, тканевой (биопсийный, операционный, аутопсийный) материал в парафиновых блоках, моча, фекалии, фекальный/ректальный мазок (соскоб), суспензии клещей, культуры микроорганизмов, концентраты образцов воды, смывы с объектов окружающей среды.

ВНИМАНИЕ! Порядок подготовки биологического материала

⁵ При хранении лизирующего раствора и раствора для отмывки 5 при температуре ниже 20 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

к экстракции РНК/ДНК смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Для работы с РНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку RNase-free, DNase-free.

ВНИМАНИЕ! Лизирующий раствор МАГНО-сорб имеет неприятный запах. Работу проводить в ламинарном боксе.

Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную (форма 4, форма 5)

1. Лизирующий раствор МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5, при наличии осадка, прогреть при температуре 60 °С 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** (если он предусмотрен для проведения исследования), **10 мкл компонента А** и **20 мкл магнетизированной силики**. Смесь готовить на общее число исследуемых и контрольных образцов плюс запас, например:

Количество образцов для экстракции РНК/ДНК	ВКО, мкл	Компонент А, мкл	Магнетизированная силика, мкл
6	70	70	140
12	130	130	260
18	190	190	380
24	250	250	500

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

4. Внести в пробирки по **40 мкл** тщательно ресуспендированной смеси ВКО, компонента А и магнетизированной силики (в случае изменения объема ВКО, вносимый объем смеси должен быть пересчитан).

5. Внести в пробирки по **600 мкл лизирующего раствора МАГНО-сорб**.
6. Добавить в каждую пробирку с лизирующим раствором **200 мкл исследуемого образца** и перемешать на вортексе.
7. В пробирку отрицательного контроля экстракции (ОК) внести **200 мкл ОКО**, в пробирку положительного контроля экстракции (ПК) внести **200 мкл соответствующего ПКО** (если они предусмотрены для проведения исследования). Плотно 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 °С** на **10 мин**.
9. Перемешать содержимое пробирок, кратким центрифугированием осадить капли. Поставить пробирки в магнитный штатив на **5 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 без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

11. Добавить в пробирки по **500 мкл раствора для отмывки 5**, 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 **5 мин**.

14. Удалить надосадочную жидкость как описано выше.

15. Добавить в пробирки по **500 мкл раствора для**

ОТМЫВКИ 4, закрыть крышки.

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

17.Поставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин.**

18.Полностью удалить надосадочную жидкость как описано выше.

19.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.

20.Добавить в пробирки по **100 мкл буфера для элюции** и перемешать на вортексе.

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

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

22.Осадить капли кратким центрифугированием и переставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин.**

Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных РНК/ДНК осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот (форма 4, форма 5)

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 FS, Финляндия), 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 МАГНО-сорб и раствор для отмывки 5, 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 **600 мкл** лизирующего раствора МАГНО-сорб в планшет с глубокими лунками,
 - по **500 мкл** раствора для отмывки 5 в планшет с глубокими лунками,
 - по **500 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,
 - **20 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 МАГНО-сорб по **40 мкл** тщательно ресуспендированной смеси (в случае изменения объема ВКО, вносимый объем смеси должен быть пересчитан).
6. Внести в лунки с лизирующим раствором МАГНО-сорб и смесью по **200 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 подсказкам/указателям расстановки.
8. Запустить протокол экстракции НК.
9. При необходимости по окончании экстракции планшет для элюции, содержащий очищенные НК, заклеить самоклеящейся пленкой.

Хранение очищенных НК

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.

Очищенная РНК может храниться:

- при температуре от 2 до 8 °С – до 4 ч;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 мес;
- при температуре не выше минус 68 °С – в течение года.

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

При автоматической экстракции, для хранения очищенных НК 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. Срок годности вскрытых реагентов соответствует сроку годности, указанному на этикетках для невскрытых реагентов, если в инструкции не указано иное.

Транспортирование. Комплект реагентов транспортировать при температуре от 2 до 25 °С в течение 5 сут.

Хранение.

Формы 1, 3, 4 и 5. Комплект реагентов хранить при температуре от 2 до 25 °С.

Форма 2. 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.ru⁶.

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 регулируемую организацию (в РФ – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Заведующий НПЛ ОМДиЭ
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора



Е.Н. Родионова

Директор
ГБУЗ МО МОНИКИ
им. М.Ф. Владимирского



К.Э. Соболев

⁶ Отзывы и предложения о продукции «АмплиСенс» вы можете оставить, заполнив анкету потребителя на сайте: www.amplisens.ru.

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



Дата изменения



Изготовитель



Предел температуры



Дата изготовления



Осторожно!