



Инструкция по применению набора реагентов расположена на сайте [www.amplisens.ru](http://www.amplisens.ru)



## Краткое руководство

### набор реагентов АмплиСенс® *Human enterovirus-FL*

Форма 3: **REF** H-2773-1-4



ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии  
Роспотребнадзора,  
Российская Федерация, 111123, город  
Москва, улица Новогиреевская, дом 3А



**VER** 05.04.21

**ВНИМАНИЕ!** Краткое руководство предназначено для удобства работы с набором реагентов в лаборатории и может быть использовано только после детального ознакомления с инструкцией по применению данного набора реагентов. Анализ и интерпретацию результатов необходимо проводить в соответствии с инструкцией к набору реагентов.

#### **ЭКСТРАКЦИЯ РНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ**

**Комплекты для экстракции:**

- «РИБО-преп».

**Контроли:** Для каждой группы экстрагируемых образцов: 1 отрицательный контроль экстракции (ОК).

Образец / реагент	Объем	Действие
ВКО-FL	10 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	100 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ОКО	100 мкл	в пробирку для <b>ОК</b>
<b>Элюция</b>		
Все образцы	50 мкл	в каждую пробирку

**ВНИМАНИЕ!** ОТ-ПЦР рекомендуется проводить сразу после получения проб РНК. Допускается хранение проб РНК при температуре от 2 до 8 °С не более 30 мин, при температуре от минус 24 до минус 16 °С – не более недели и при температуре не выше минус 68 °С – до года. Допускается только однократное замораживание-оттаивание проб РНК.

## ПОДГОТОВКА ПРОБ ДЛЯ ОТ-ПЦР с помощью «ПЦР-комплекта» вариант FRT-L

**Общий объем реакционной смеси:** 25 мкл, включая объем пробы РНК (25 мкл).

**Контроли:** 1 положительный (К+) и 1 отрицательный (К-) контроли ОТ-ПЦР; 1 отрицательный контроль экстракции (ОК).

- Отобрать необходимое количество пробирок с ПЦР-смесью *Enterovirus-Lyo* для ОТ-ПЦР исследуемых и контрольных проб.

Внести по 25 мкл	
Проб РНК, экстрагированной из исследуемых образцов	в пробирку для исследуемых образцов
Пробы РНК, экстрагированной из ОКО	в пробирку для ОК
К+ <i>Enterovirus</i>	в пробирку для К+
К-	в пробирку для К-

**ВНИМАНИЕ!** Содержимое пробирок необходимо тщательно перемешать пипетированием, не допуская появления пузырьков воздуха.

**ВНИМАНИЕ!** Провести ОТ-ПЦР сразу после соединения реакционной смеси с РНК-пробами и контролями. Время внесения проб в реакционную смесь и запуска реакции на приборе не должно превышать 10-15 минут.

## ПРОВЕДЕНИЕ ОТ-ПЦР С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

- Запрограммировать амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени».

Единая программа амплификации «АмплиСенс»				
Цикл	Температура, °С	Время	Измерение флуоресценции	Кол-во циклов
1	50	15 мин	–	1
2	95	15 мин	–	1
3	95	10 с	–	45
	60	20 с	<b>FAM, JOE</b>	

Настройки приборов роторного и планшетного типа см. во вкладыше к набору реагентов.

**ВНИМАНИЕ!** С использованием единой программы можно одновременно проводить в одном приборе любое сочетание тестов. При одновременном проведении нескольких тестов в формате «мультипрайм» детекция флуоресцентного сигнала назначается и по другим используемым каналам, кроме указанных.

- Установить пробирки в ячейки реакционного модуля и запустить прибор. Рекомендуется перед постановкой в амплификатор планшетного типа осадить капли со стенок пробирок на вортексе.

**ВНИМАНИЕ!** В случае неполной загрузки приборов планшетного типа рекомендуется дополнительно установить пустые пробирки по краям реакционного модуля амплификатора.

## АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по двум каналам:

Флуорофор	FAM	JOE
Мишень для амплификации	кДНК ВКО-FL	кДНК <i>Enterovirus (Human enterovirus)</i>

**ВНИМАНИЕ!** К каждому набору реагентов прилагается **вкладыш**, в котором указаны граничные значения порогового цикла ( $C_t$ ), необходимые для проведения анализа и интерпретации результатов.