УТВЕРЖДАЮ

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



_____ В.В. Малеев

«29» декабря 2015 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению комплекта реагентов

для экстракции ДНК из биологического материала

«АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО»

АмплиСенс®

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

IVD

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 3
НАЗНАЧЕНИЕ 3
ПРИНЦИП МЕТОДА 4
ФОРМЫ ВЫПУСКА КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ 4
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ 4
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ 6
СОСТАВ 8
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ 8
СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ 10
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 11
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ 12

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ВКО-FL	– экзогенный внутренний контрольный образец
ДНК	– дезоксирибонуклеиновая кислота
ИППП	– инфекции, передающиеся половым путем
НК	– нуклеиновые кислоты
ОК	– отрицательный контроль экстракции
ОКО	– отрицательный контрольный образец
ПК	– положительный контроль экстракции
ПКО	– положительный контрольный образец
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
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 (отделяемое слизистых оболочек влагалища, цервикального канала, уретры; моча) для последующего (качественного или количественного) исследования на наличие ДНК возбудителей ИППП, других инфекций органов репродукции и инфекций мочевыводящих путей методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Комплект реагентов может использоваться совместно с автоматическими станциями для экстракции, при условии, что запрограммирована последовательность действий, изложенная в данной инструкции.

Экстракция ДНК является преаналитической процедурой метода ПЦР в клинической лабораторной диагностике.

Объем исследуемого образца для экстракции: 100 мкл.

ВНИМАНИЕ! Информацию о порядке взятия, условиях транспортирования и хранения исследуемого материала, необходимости и порядке его подготовки к экстракции ДНК, а также информацию об интерферирующих веществах и ограничениях, связанных с пробой, смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

ПРИНЦИП МЕТОДА

Исследуемый образец[1] обрабатывается лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики (магнитного сорбента). В результате 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 при осаждении сорбента на магнитном штативе с последующей отмывкой сорбента. При добавлении буфера для элюции к магнитному сорбенту происходит переход ДНК с поверхности силики в раствор, который затем отделяется от частиц сорбента магнитной силой. В результате указанной процедуры получается высокоочищенный препарат ДНК, свободный от ингибиторов реакции амплификации, что обеспечивает высокую аналитическую чувствительность ПЦР-исследования.

ФОРМЫ ВЫПУСКА КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ

Комплект реагентов выпускается в 1 форме комплектации:

Форма 1 включает комплект реагентов «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» вариант 100С.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями

[1] Для некоторых видов биологического материала требуется помещение материала в транспортную среду и/или этап пробоподготовки. См. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

паразитарных болезней».

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Работу следует начинать в Зоне Экстракции, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».
- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром[2]. Одноразовую пластиковую посуду необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.
- Комплект реагентов предназначен для одноразового применения для проведения исследования указанного количества проб (см. раздел «Состав»).
- Комплект реагентов готов к применению согласно данной инструкции. Применять комплект реагентов строго по назначению.
- К работе с комплектом реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней»).
- Не использовать комплект реагентов, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать комплект реагентов, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

[2] Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции используются одноразовые наконечники без фильтра.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- 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 контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.
- Листы безопасности реагентов (SDS – Safety data sheet) доступны по запросу.

Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности 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.

Специфические воздействия комплекта реагентов на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.
- Мутагенное действие отсутствует.
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

При использовании автоматических станций для экстракции НК

1. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
2. Завинчивающиеся крышки к пробиркам (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
3. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл или одноразовые 96-луночные планшеты для элюции (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

200 мкл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).

5. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
6. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А (например, «БАВп-01-«Ламинар-С.»-1,2», «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный).
7. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
8. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, SIA BioSan, Латвия, или аналогичный).
9. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
10. Автоматическая станция для экстракции НК – Станция роботизированная для дозирования жидкостей для медицинских и лабораторных исследований Xiril Neon 100 series (Xiril AG («Ксирил АГ»), Швейцария), или аналогичная.
11. Комплект расходных материалов для автоматической станции для экстракции НК.
12. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
13. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
14. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

<u>При ручной методике экстракции НК</u>

1. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
2. Завинчивающиеся крышки к пробиркам (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк.»), США, или аналогичные).
3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 200 мкл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
5. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
6. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл.
7. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А (например, «БАВп-01-«Ламинар-С.»-1,2», «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный).
8. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
9. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, SIA

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

BioSan, Латвия, или аналогичный).

10. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1» (ООО «Утес», Россия), или аналогичный).
11. Автоматические дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
12. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 16 °С.
13. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
14. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

СОСТАВ

Комплект реагентов «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» вариант 100С – комплект реагентов для экстракции ДНК из биологического материала – **включает:**

Реактив	Описание	Объем, мл	Количество
Лизирующий раствор МАГНО-сорб	Прозрачная бесцветная жидкость[3]	45	1 флакон
Компонент А-1	Прозрачная бесцветная жидкость	0,6	2 пробирки
Раствор для отмывки 7	Прозрачная бесцветная жидкость	12	2 флакона
Магнетизированная силика	Суспензия от бурого до черного цвета	0,6	2 пробирки
Буфер для элюции В	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	13 пробирок
ВКО-FL	Прозрачная бесцветная жидкость	1,0	2 пробирки
ОКО	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	2 пробирки

Комплект реагентов вариант 100С рассчитан на экстракцию ДНК из 100 проб, включая контроли.

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции. Также порядок работы с конкретной автоматической станцией описан в методических рекомендациях по применению комплекта реагентов «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО», разработанных ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

[3] При хранении лизирующего раствора МАГНО-сорб при температуре ниже 20 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Порядок работы

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

1. **Лизирующий раствор МАГНО-сорб** прогреть при температуре **60 °С** до полного растворения кристаллов.
2. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный и положительный контроли экстракции, если они предусмотрены для проведения ПЦР-исследования). Промаркировать.
3. Смешать в отдельной пробирке объемом 1,5 мл **ВКО-FL**, **компонент А-1** и **магнетизированную силику** из расчета на один образец **10 мкл ВКО-FL, 10 мкл компонента А-1** и **10 мкл магнетизированной силики**[4]. При расчете необходимо учитывать запас – рассчитывать на один образец больше, 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 объемом 1,5 мл по **30 мкл** подготовленной смеси **ВКО-FL, компонента А-1** и **магнетизированной силики**.
5. Добавить в пробирки по **450 мкл лизирующего раствора МАГНО-сорб.**
6. Внести в подготовленные пробирки по **100 мкл** исследуемых образцов[5].
7. В пробирку отрицательного контроля (**ОК**) экстракции внести **100 мкл ОКО**[6].
8. В пробирку положительного контроля **(ПК)** экстракции внести **100 мкл** препарата **ПКО**, приготовленного согласно инструкции к набору реагентов для амплификации (если он предусмотрен для проведения ПЦР-исследования)[6].
9. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**.
10. Осадить капли на вортексе и перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.
11. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы. Перенести пробирки в обычный штатив.

---

[4] Предварительное смешивание ВКО-FL, компонента А-1 и магнетизированной силики позволяет упростить процедуру экстракции. Возможно раздельное внесение этих реагентов.

[5] Для образцов мочи необходимо произвести предобработку согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

[6] Результаты постановки контролей этапа экстракции используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

12. Добавить в пробирки по **200 мкл раствора для отмывки 7**, плотно закрыть крышки.
13. Смыть магнетизированную силику перемешиванием на вортексе, затем осадить капли на вортексе.
14. Переставить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **1 мин**.
15. Отобрать надосадочную жидкость, аналогично п. 11. Перенести пробирки в обычный штатив.
16. Высушить магнетизированную силику, оставив пробирки с открытыми крышками на магнитном штативе, в течение **10 мин**.
17. Добавить в пробирки по **100 мкл буфера для элюции В**, перемешать на вортексе. Допускается увеличение объема элюции до **250 мкл**[7] (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации).
18. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **5 мин**.
19. Осадить капли на вортексе и переставить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК. Пробы готовы к постановке ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных ДНК для проведения ПЦР осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Очищенная ДНК может храниться при температуре от 2 до 8 °С в течение недели, при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение 6 мес и при температуре не выше минус 68 °С в течение года. Для этого необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в стерильную 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. При получении разукомплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

---

[7] Количество буфера для элюции, входящего в состав комплекта реагентов, рассчитано на проведение элюции в 150 мкл. В случае если для проведения амплификации требуется увеличение объема элюции до 250 мкл, дополнительное количество буфера для элюции входит в состав набора реагентов для проведения амплификации.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Хранение. Комплект реагентов хранить при температуре от 2 до 25 °С, кроме ВКО-FL. ВКО-FL хранить при температуре от 2 до 8 °С.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель 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.

Рекламации на качество комплекта реагентов «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» направлять в отдел рекламаций, организации обучения и контроля качества по адресу 115035, г. Москва, ул. Садовническая, д. 20/13, стр. 2 (тел. (495) 664-28-84, факс (495) 664-28-89, e-mail: cs@ilslab.ru)[8].

При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению комплекта реагентов, нежелательных реакций при его использовании, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации комплекта реагентов, рекомендуется направить сообщение в отдел по работе с рекламациями по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую 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

Главный врач ФГБУ «Поликлиника № 1»
Управления делами Президента РФ — Е.В.Ржевская

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

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ

REF	Номер в каталоге	Σ	Максимальное число тестов
LOT	Код партии		Использовать до
IVD	Изделие для in vitro диагностики	i	Обратитесь к руководству по эксплуатации
VER	Дата изменения		Производитель
	Ограничение температуры		Дата изготовления

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru