«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

«16» июня 2021 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

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

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 3
НАЗНАЧЕНИЕ 3
ПРИНЦИП МЕТОДА 4
ФОРМЫ КОМПЛЕКТАЦИИ 4
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ 5
СВЕДЕНИЯ ОБ УТИЛИЗАЦИИ 7
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ 7
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА К ЭКСТРАКЦИИ ДНК 9
ИНТЕРФЕРИРУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА И ОГРАНИЧЕНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ ПРОБ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА. 9
ФОРМА 1: «АмплиСенс® МАГНО-сорб-УРО» вариант 100 12
СОСТАВ 12
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ 12
Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную 12
Порядок работы при использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот 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) 22
Хранение очищенной ДНК 24
СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ 25
ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ИЗГОТОВИТЕЛЯ 26
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ 27

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
МАНК	– методы амплификации нуклеиновых кислот
ОК	– отрицательный контроль экстракции
ОКО	– отрицательный контрольный образец
ПК	– положительный контроль экстракции
ПКО	– положительный контрольный образец
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 эпителия со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ),
- соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала, взятый в транспортно-фиксирующую спиртосодержащую среду для жидкостной цитологии,
- соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры,
- отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки ротоглотки,
- отделяемое (соскоб/мазок) слизистой оболочки прямой кишки/анального канала,
- моча.

Показания и противопоказания к применению комплекта реагентов

Экстракция ДНК используется на преаналитическом этапе in vitro диагностики МАНК.

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

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 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.

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

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

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические 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 одноразового применения для проведения экстракции ДНК из указанного количества проб (см. раздел «Формы комплектации»).

Комплект реагентов готов к применению согласно данной

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

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,

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

– 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, упаковку[1], 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

1. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
2. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объемом 2 мл (например, Eppendorf AG, Германия, или аналогичные) – при работе с формой 2.
3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 200 мкл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 и до 1000 мкл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
5. Штативы для пробирок (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).

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

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

6. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл (например, «Синтол», Россия).
7. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А (например, «БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2», ЗАО «Ламинарные системы», Россия, или аналогичный).
8. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» с максимальной скоростью центрифугирования не менее 12 тыс g (например, MiniSpin, Eppendorf Manufacturing Corporation («Эппендорф Мануфэктуринг Корпорэйшн»), Германия, или аналогичная) – при работе с формой 2.
9. Вортекс (например, SIA Biosan, Латвия, или аналогичный).
10. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, SIA BioSan, Латвия, или аналогичный).
11. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1», ООО «Утес», Россия, или аналогичный).
12. Автоматические одноканальные дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
13. Холодильник от 2 до 8 °С.
14. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки.
15. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

<u>При использовании автоматических станций для экстракции нуклеиновых кислот:</u>

16. Автоматическая станция для экстракции ДНК 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).
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;

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

– самоклеящаяся пленка для планшетов, стерильная.

18. Одноразовые полипропиленовые или полистирольные пробирки объемом от 1,5 до 5 мл с крышками (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные) – для приготовления требуемого объема смеси магнетизированной силики.
19. Одноразовые наконечники с фильтрами для дозаторов переменного объема до 100 мкл (например, Axygen, Inc. («Эксиджен, Инк»), США, или аналогичные).
20. Одноразовые наконечники с фильтрами для дозаторов переменного объема до 1000 (например, Biofil, Guangzhou Jet Bio-Filtration Co., Ltd, Китай, или аналогичные).
21. Автоматические одноканальные дозаторы переменного объема (например, ООО «Биохит», Россия, или аналогичные).
22. Автоматический 8-канальный дозатор переменного объема (например, «Эппендорф», США, или аналогичные).
23. 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

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

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

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 оболочки ротоглотки	Эндогенные вещества	Муцин	5%	Не обнаружено
	Экзогенные вещества	Раствор Люголя с глицерином	0,5%	Не обнаружено
		Водный раствор хлоргексидина биглюконата	2,5%	Не обнаружено
Отделяемое (соскоб/мазок) 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 эпителия со слизистой оболочки цервикального канала, взятый в транспортно-	Эндогенные	Гемоглобин	260 мкг/мл	Не обнаружено
		Лактоферрин	5 мкг/мл	
		Гликоген	120 мг/мл	
		Муцин	150 мкг/мл	
	Экзогенные	«Мирамистин»	16 % (объем препарата к объему исследуемого образца)	
		«Клотримазол»		
		«Метронидазол»		
		Неомицин+ Нистатин+ Полимиксин В («Полижинакс»)		

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

Вид исследуемого материала	Вид потенциаль-ного интерферента	Потенциаль-ный интерферент	Концентрация в образце	Наличие интерферен-ции
фиксирующую спиртосодержащую среду для жидкостной цитологии, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ), соскоб эпителия со слизистой оболочки уретры		Нистатин + Нифурател («Макмирор комплекс»)		
		водный раствор хлоргексидина биглюконата		
		«Hasico For Women» гель-смазка		
		«Contex Silk», интимный гель-смазка, силиконовый		
		«Play Feel», гель-смазка для повышения чувстви-тельности		

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

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[2]	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

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Объем исследуемого материала – 100 мкл.

Исследуемый материал – отделяемое (мазок, соскоб) слизистой оболочки влагалища, соскоб эпителия со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ), соскоб эпителия со 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.

Порядок работы при использовании магнитных штативов вручную

1. **Лизирующий раствор МС-УРО** при наличии осадка прогреть при температуре **60°С** до полного растворения кристаллов, магнетизированную силику ресуспендировать на

[2] При хранении лизирующего раствора МС-УРО при температуре ниже 20 ˚С возможно образование осадка в виде кристаллов.

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

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 **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**.

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

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 °С** 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 °С** 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 <u>без снятия пробирок с магнитного штатива</u>.

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

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 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).

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

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, NEON 100 (Xiril 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 эпителия со слизистой оболочки цервикального канала в транспортной среде с муколитиком (ТСМ), соскоба эпителия со 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 стации.
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**

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

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.

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

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[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
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

ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Объем исследуемого материала – около 100 мкл лизированного клеточного осадка.

Исследуемый материал – соскоб эпителия 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.

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

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

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 **1,0-2,0 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.**

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

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. Плотно закрыть пробирки и перемешать на вортексе.
8. Пробирки инкубировать в течение **1 ч** при температуре **60 ºС**.

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°С** 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

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

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). 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.

6. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** 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

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

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 °С** 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 °С** 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 FS, Финляндия), или аналогичные)

Для экстракции следует использовать только протоколы,

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

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 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

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

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 пробирки.

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

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

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

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[4].

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.

Заведующий НПЛ ОМДиЭ
ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии
Роспотребнадзора — Е.Н. Родионова

Директор
ГБУЗ МО МОНИКИ
им. М.Ф. Владимирского — К.Э. Соболев

[4] 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 по каталогу	Σ	Содержимого достаточно для проведения n тестов
LOT	Код партии		Использовать до
IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro		Обратитесь к инструкции по применению
VER	Дата изменения		Изготовитель
	Предел температуры		Дата изготовления
	Осторожно!		

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