Приказом Росздравнадзора
от 26.09.2012 г. № 1620-Пр/12

УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
_____ В.И.Покровский
«14» 06 2012 г.

# ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов
для выявления и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6 и 11 генотипов в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией

# «АмплиСенс® ВПЧ 6/11-FL»

**АмплиСенс®**

Федеральное бюджетное учреждение науки
«Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии»,
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
ФОРМАТЫ И ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ ..... 4
АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ..... 6
МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ..... 7
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ ..... 8
ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА ..... 9
ФОРМАТ FEP ..... 11
СОСТАВ ..... 11
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ ..... 12
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ ..... 13
ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ ..... 13
А. Подготовка пробирок для амплификации ..... 13
Б. Проведение амплификации ..... 16
ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ПРОДУКТОВ АМПЛИФИКАЦИИ ПО «КОНЕЧНОЙ ТОЧКЕ» ..... 18
ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ..... 19
ФОРМАТ FRT ..... 21
СОСТАВ ..... 21
ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ ..... 22
ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ ..... 23
ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ» ..... 23
А. Подготовка пробирок для амплификации ..... 23
Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени» ..... 25
АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ..... 27
СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ ..... 31
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 ..... 32
СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ ..... 34



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

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

| | |
|---|---|
| ВКО | - внутренний контрольный образец (участок β-глобинового гена человека) |
| ВПЧ | - вирус папилломы человека |
| ДНК | - дезоксирибонуклеиновая кислота |
| ОКО | - отрицательный контрольный образец |
| ПЦР | - полимеразная цепная реакция |
| РШМ | - рак шейки матки |
| ТСМ | - транспортная среда с муколитиком |
| 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 |
| FEP | - флуоресцентная детекция по «конечной точке» |
| FRT | - флуоресцентная детекция в режиме «реального времени» |

## НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов **«АмплиСенс® ВПЧ 6/11-FL»** предназначен для выявления и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6 и 11 генотипов в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации. Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, выделенные из соскобного отделяемого слизистых оболочек урогенитального тракта.

ВПЧ 6 и 11 генотипов относятся к генотипам низкого онкогенного риска, при этом являются неассоциированными с развитием рака шейки матки (РШМ). Для генотипов низкого онкогенного риска характерно оказание продуктивного воздействия на клетки. Данные вирусы ответственны за образование генитальных бородавок (остроконечных кондилом гениталий), рецидивирующего респираторного папилломатоза гортани, при этом более 95 % случаев данных патологий связаны с 6 и 11 генотипами.

Следует также отметить, что 6 и 11 генотипы входят в состав квадривалентной вакцины, защищающей от инфицирования ВПЧ 6, 11, 16 и 18 генотипами. Таким образом, выявление ВПЧ 6 и 11 генотипов может быть также использовано для оценки эффективности вакцинопрофилактики РШМ и доброкачественных генитальных образований.

**ВНИМАНИЕ!** Результаты ПЦР-исследования учитываются в комплексной



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

диагностике заболевания[1].

**ПРИНЦИП МЕТОДА**

Выявление ДНК ВПЧ методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией включает в себя три этапа: экстракцию ДНК из образцов клинического материала, амплификацию участка ДНК данного микроорганизма и гибридизационно-флуоресцентную детекцию. Детекция флуоресцентного сигнала при использовании формата FEP осуществляется после окончания ПЦР с помощью флуоресцентного ПЦР-детектора, а при использовании формата FRT – непосредственно в ходе ПЦР с помощью амплификатора с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени».

Метод основан на одновременной амплификации участков ДНК ВПЧ и участка ДНК β-глобинового гена, используемого в качестве эндогенного внутреннего контроля. ПЦР-анализ на наличие ДНК ВПЧ 6 и 11 генотипов проводится в одной пробирке. ДНК-мишень, выбранная в качестве внутреннего контроля, является участком генома человека и должна всегда присутствовать в образце (цервикальный соскоб) в достаточном количестве, эквивалентном количеству клеток в мазке ($10^5$-$10^7$ клеток/мл). Таким образом, эндогенный внутренний контроль позволяет не только контролировать этапы ПЦР-анализа (экстракцию ДНК и проведение ПЦР-амплификации), но и оценивать адекватность взятия материала и его хранения. В случаях, когда соскоб эпителия взят неправильно (недостаточное количество эпителиальных клеток), сигнал амплификации β-глобинового гена будет заниженным.

**ФОРМАТЫ И ФОРМЫ ВЫПУСКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ**

**Набор реагентов выпускается в 2 форматах.**

**Формат FEP**

Набор реагентов выпускается в 7 формах комплектации:

**Форма 1** включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP-100 F.

**Форма 2** включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,5 мл).

**Форма 3** включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,2 мл).

**Форма 4** включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-

[1] В соответствии с Директивой Европейского Союза 98/79/ЕС.



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

комплект» вариант FEP-100 F.

**Форма 5** включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,5 мл).

**Форма 6** включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант FEP (пробирки 0,2 мл).

**Форма 7** включает наборы реагентов оптом, расфасованные по отдельным реагентам, с маркировкой реагентов на их оптовой фасовке.

Формы комплектации 1, 2, 3 предназначены для амплификации ДНК ВПЧ 6, 11 генотипов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «по конечной точке». Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Формы комплектации 4, 5, 6 предназначены для проведения полного ПЦР-исследования, включая экстракцию из клинического материала ДНК и амплификацию ДНК ВПЧ 6, 11 генотипов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «по конечной точке».

Форма комплектации 7 предназначена для производственных целей для последующей маркировки на языке заказчика и комплектации по наборам.

**ВНИМАНИЕ!** Форма комплектации 7 используется только в соответствии с регламентом, утвержденным ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

**Формат FRT**

Набор реагентов выпускается в 5 формах комплектации:

**Форма 1** включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F.

**Форма 2** включает комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT.

**Форма 3** включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F.

**Форма 4** включает комплекты реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100, «ПЦР-комплект» вариант FRT.

**Форма 5** включает наборы реагентов оптом, расфасованные по отдельным реагентам, с маркировкой реагентов на их оптовой фасовке.

Формы комплектации 1, 2 предназначены для проведения амплификации ДНК 6, 11 генотипов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени». Для проведения полного ПЦР-исследования необходимо



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

использовать комплекты реагентов для экстракции ДНК, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

Формы комплектации 3, 4 предназначены для полного ПЦР-исследования, включая экстракцию из клинического материала ДНК и амплификацию ДНК ВПЧ 6, 11 генотипов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».

Форма комплектации 5 предназначена для производственных целей для последующей маркировке на языке заказчика и комплектации по наборам.

**ВНИМАНИЕ!** Форма комплектации 5 используется только в соответствии с регламентом, утвержденным ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

### Аналитическая чувствительность

| Вид клинического материала | Транспортная среда | Комплект для выделения ДНК | Комплект для амплификации и детекции | Аналитическая чувствительность, ГЭ/мл[2] |
|---|---|---|---|---|
| Соскоб цервикального эпителия | «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» | «ДНК-сорб-АМ» | «ПЦР-комплект» варианты FEP и FRT | $1x10^3$ |

### Аналитическая специфичность

Набор реагентов обнаруживает фрагмент ДНК ВПЧ 6 и 11 генотипов. Аналитическая специфичность набора была исследована посредством добавления в реакцию ДНК/РНК различных микроорганизмов: Аденовирус типы 2, 3, 7; Цитомегаловирус; вирус Эпштейна-Барр; вирус ветряной оспы; вирус гепатита В, С; вирус иммунодефицита человека первого типа; вирус герпеса человека типы 6, 8; вирус простого герпеса; *Chlamydia trachomatis*; *Mycoplasma hominis*, *M.genitalium*; *Ureaplasma urealyticum*; *Gardnerella vaginalis*; *Neisseria gonorrhoeae*; *Trichomonas vaginalis*; *Candida albicans*; *Streptococcus pyogenes*; *Staphylococcus aureus*; ДНК вирусов папилломы человека рода β, γ, μ (1, 3, 4, 5, 8, 37, 38, 65, 20, 24, 49, 50, 15), рода α низкого и неустановленного риска (26, 53, 7, 27, 10), рода α высокого канцерогенного риска (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68) в концентрации $10^8$ копий ДНК ВПЧ на мл. Перекрестных реакций при этом не наблюдалось.

[2] Количество геномных эквивалентов микроорганизма (ГЭ) в 1 мл образца клинического материала, помещенного в указанную транспортную среду.



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

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования клинического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением санитарно-эпидемических 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 всегда следует выполнять следующие требования:

- Следует 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 паразитарных болезней».
- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реактивы, 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 Выделения, продолжать в Зоне Амплификации и Детекции. Не возвращать образцы, оборудование и реактивы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Удалять неиспользованные реактивы в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

**ВНИМАНИЕ!** При удалении отходов после амплификации (пробирок, содержащих продукты ПЦР) недопустимо открывание пробирок и разбрызгивание содержимого, поскольку это может привести к контаминации продуктами ПЦР лабораторной зоны, оборудования и реагентов.

- Применять набор строго по назначению, согласно данной инструкции.
- Допускать к работе с набором только специально обученный персонал.
- Не использовать набор по истечении срока годности.



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

- Использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реактивами. Тщательно вымыть руки по окончании работы.
- Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте немедленно промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.
- Листы безопасности материалов (MSDS – material safety data sheet) доступны по запросу.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

1. Транспортная среда – «Транспортная среда с муколитиком (ТСМ)» (ТУ 9398-098-01897593-2009) или другие рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.
2. Комплект реагентов для экстракции ДНК – «ДНК-сорб-АМ» (ТУ 9398-036-01897593-2009) или другие рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора – при работе с формами комплектации 1, 2, 3 (формат FEP) и 1, 2 (формат FRT).
3. Дополнительные материалы и оборудование для экстракции ДНК – согласно инструкции к комплекту реагентов для экстракции ДНК.
4. Бокс абактериальной воздушной среды (ПЦР-бокс).
5. Центрифуга/вортекс.
6. Набор электронных или механических дозаторов переменного объема.
7. Одноразовые наконечники для дозаторов до 200 мкл.
8. Одноразовые наконечники с фильтром до 200 мкл.
9. Штативы для наконечников и пробирок объемом 0,2 мл или 0,5 мл (в соответствии с используемыми комплектами реагентов).
10. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
11. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки по МУ 1.3.2569-09.
12. Емкость для сброса наконечников.

<u>При работе с «ПЦР-комплектом» формат FEP:</u>

13. Одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 0,5 мл или 0,2 мл.
14. Программируемый амплификатор для пробирок объемом 0,5 мл (например, «Терцик» («ДНК-Технология», Россия)) или эквивалентный для пробирок объемом 0,2 мл (например, Gradient Palm Cycler (Corbett Research, Австралия),



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

MaxyGene (Axygen, США) или эквивалентный).

15. Флуоресцентный ПЦР-детектор с тремя и более каналами детекции (например, ALA-1/4 (BioSan, Латвия); «Джин» («ДНК-Технология», Россия) или эквивалентный).

При работе с «ПЦР-комплектом» формат FRT:

16. Программируемый амплификатор с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» (например, Rotor-Gene 3000/6000 (Corbett Research, Австралия), Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия), iCycler iQ5 (Bio-Rad, США), Mx3000P/3005P (Stratagene, США), «ДТ-96» («ДНК-Технология», Россия) или аналогичные).
17. Одноразовые полипропиленовые пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл или 0,1 мл – при работе с «ПЦР-комплектом» вариант FRT-100 F:
    а) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с выпуклой крышкой (например, Axygen, США) – при использовании прибора планшетного типа;
    б) тонкостенные пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл с плоской крышкой (например, Axygen, США) или пробирки для ПЦР к Rotor-Gene, объемом 0,1 мл в стрипах по 4 шт. с крышками (например, Corbett Research, Австралия; Qiagen, Германия) – при использовании прибора роторного типа.

## ВЗЯТИЕ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2008 г.

Для проведения анализа используется следующий клинический материал:

**У женщин**: образцы эпителия берут так же, как для цитологического исследования:

**Первый способ** – используется комплект для взятия образцов, содержащий одну/две цервикальные цитощетки и пробирку на 2 мл с «ТСМ» в объеме 0,5 мл.

Соскоб эпителия цервикального канала (эндоцервикс), взятый одной цервикальной цитощеткой, и/или соскоб эпителия с поверхности шейки матки (экзоцервикс), взятый второй цервикальной цитощеткой, поместить в пробирку с транспортной средой. Рабочую часть цитощеток обломить и оставить в пробирке с транспортной средой.



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

**Второй способ** – используется комплект для взятия образцов фирмы Digene (США), содержащий цервикальную цитощетку и пробирку с транспортной средой Digene в объеме 1,0 мл.

Эндоцервикс, взятый цервикальной цитощеткой, поместить в пробирку с транспортной средой Digene.

**Третий способ** – используется комплект для взятия образцов, содержащий комбинированный гинекологический зонд для одновременного взятия эпителия из эндо-/экзоцервикса и пробирку на 5 мл с ТСМ в объеме 2,0 мл.

Эндоцервикс и экзоцервикс поместить в пробирку с транспортной средой. Рабочую часть зонда обломить и оставить в пробирке с транспортной средой.

**Четвертый способ** – используется комплект для взятия образцов, содержащий комбинированный гинекологический зонд для одновременного взятия эпителия из эндо-/экзоцервикса и банку с транспортно-фиксирующей средой фирмы CytoScreen (Италия) или фирмы PreservCyt (США) для жидкостной цитологии.

Эндоцервикс и экзоцервикс поместить в пробирку с транспортно-фиксирующей средой. Рабочую часть зонда обломить и оставить в банке с транспортной средой.

**Пятый способ** – используется «Комплект для самостоятельного взятия мазка из влагалища для диагностики инфекций методом ПЦР» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

**У мужчин**: соскоб эпителия уретры, взятый универсальным зондом, поместить в пробирку на 2 мл с «ТСМ» в объеме 0,5 мл.

Условия хранения проб:

- при температуре от 18 до 25 °С – не более 5 сут;
- при температуре от 2 до 8 °С – не более 20 сут;
- при температуре не выше минус 16 °С – в течение года. Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

В транспортно-фиксирующей среде для жидкостной цитологии материал хранится при комнатной температуре в течение года.



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

**ФОРМАТ FEP**

**СОСТАВ**

**Комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100** – комплект реагентов для выделения ДНК из клинического материала – **включает:**

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **Лизирующий раствор** | Прозрачная бесцветная жидкость[3] | 30 | 1 флакон |
| **Отмывочный раствор** | Прозрачная бесцветная жидкость | 100 | 1 флакон |
| **Сорбент универсальный** | Суспензия белого цвета | 1,0 | 2 пробирки |
| **ТЕ-буфер для элюции ДНК** | Прозрачная бесцветная жидкость | 5,0 | 2 пробирки |

Комплект реагентов рассчитан для экстракции ДНК из 100 проб, включая контроли. Входит в состав форм комплектации 4, 5, 6.

**Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP-100 F** – комплект реагентов для амплификации и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6 и 11 генотипов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией по «конечной точке» **– включает:**

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,3 | 4 пробирки |
| **ПЦР-смесь-2-FRT** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,3 | 2 пробирки |
| **Полимераза (TaqF)** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,03 | 2 пробирки |
| **ПЦР-смесь-Фон** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,5 | 1 пробирка |
| **Минеральное масло для ПЦР** | Бесцветная вязкая жидкость | 4,0 | 1 флакон |
| **ПКО ДНК ВПЧ 6, 11 типов и ДНК человека** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,2 | 1 пробирка |
| **ДНК-буфер** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,5 | 1 пробирка |

Комплект реагентов рассчитан на проведение 110 реакций амплификации, включая контроли и фоновые образцы. Входит в состав форм комплектации 1, 4.

К комплекту реагентов прилагается контрольный образец этапа экстракции:

[3] При хранении лизирующего раствора при температуре от 2 до 8 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.



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

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **ОКО** | Прозрачная бесцветная жидкость | 1,2 | 1 пробирка |

**Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP** – комплект реагентов для амплификации и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6 и 11 генотипов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией по «конечной точке» **– включает:**

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11** раскапана под воск | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,01 | 110 пробирок объемом 0,5 или 0,2 мл |
| **ПЦР-смесь-2-FL-red** | Прозрачная жидкость красного цвета | 1,1 | 1 пробирка |
| **ПЦР-смесь-Фон-red** | Прозрачная жидкость красного цвета | 0,6 | 1 пробирка |
| **Минеральное масло для ПЦР** | Бесцветная вязкая жидкость | 4,0 | 1 флакон |
| **ПКО ДНК ВПЧ 6, 11 типов и ДНК человека** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,2 | 1 пробирка |
| **ДНК-буфер** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,5 | 1 пробирка |

Комплект реагентов рассчитан на проведение 110 реакций амплификации, включая контроли и фоновые образцы. Входит в состав форм комплектации 2, 3, 5, 6.

К комплекту реагентов прилагается контрольный образец этапа экстракции:

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **ОКО** | Прозрачная бесцветная жидкость | 1,2 | 1 пробирка |

## ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- Экстракция ДНК из исследуемых образцов.
- Проведение амплификации.
- Флуоресцентная детекция продуктов амплификации по «конечной точке».
- Интерпретация результатов.

Детальная информация по процедуре проведения ПЦР-исследования в зависимости от используемого оборудования изложена в методических



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

рекомендациях по применению набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6 и 11 генотипов в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ВПЧ 6/11-FL», разработанных ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

## ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для экстракции ДНК используются комплекты реагентов, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, в соответствии с инструкцией к используемому комплекту.

При использовании форм выпуска набора 4, 5, 6 для экстракции ДНК используется входящий в набор комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ». Порядок работы см. в **приложении 1** «Экстракция ДНК с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб-АМ».

## ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ

### А. Подготовка пробирок для амплификации

**Выбор типа пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора.**

**Для внесения в пробирки реагентов, проб ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.**

### А1. Подготовка пробирок для проведения амплификации при помощи комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP-100 F

**Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.**

1. Приготовить образцы **«Фон». Необходимо готовить 2 фоновых образца**. Для этого:
   - **При использовании одного из рекомендованных комплектов для экстракции ДНК:** в две пробирки внести по **10 мкл ПЦР-смеси-1-FL ВПЧ 6/11** и по **15 мкл ПЦР-смеси-Фон**. На поверхность добавить каплю **минерального масла для ПЦР** (масло рекомендуется добавлять вне зависимости от типа амплификатора).
   - **При использовании других наборов реагентов для экстракции ДНК** необходимо следовать инструкции к используемому набору.



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

**ВНИМАНИЕ!** После проведения амплификации образцы «Фон» можно хранить в течение 1 мес при температуре от 2 до 20 °С и использовать многократно. Многократное использование пробирок «Фон» допускается при условии их использования с набором реагентов той же серии, того же типа выделительных реагентов и того же типа пробирок для амплификации.

2. Подготовить **смесь ПЦР-смеси-2-FRT** и **полимеразы (TaqF)**. Для этого содержимое одной пробирки с **полимеразой (TaqF) (30 мкл)** необходимо полностью перенести в пробирку с **ПЦР-смесью-2-FRT (300 мкл)** и аккуратно перемешать на вортексе, не допуская образования пены. Промаркировать пробирку, указав дату приготовления смеси.

   **ВНИМАНИЕ!** Приготовленная смесь рассчитана на исследование **60** образцов. Смесь хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 3 мес и использовать по мере необходимости.

3. Подготовить реакционную смесь (см. табл. 1). При расчете следует учитывать, что постановка сопровождается тремя контрольными точками. Кроме того, необходимо брать реагенты **с запасом**: рассчитывать на одну реакцию больше.

   Расчет производится исходя из того, что на каждую постановку ПЦР требуется:

   – 10 мкл **ПЦР-смеси-1-FL ВПЧ 6/11**;
   – 5 мкл **смеси ПЦР-смеси-2-FRT и полимеразы (TaqF).**

Таблица 1

**Схема приготовления реакционных смесей**

| **Число исследуемых образцов** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** | **11** | **12** | **13** | **14** | **15** | **16** | **17** | **18** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11, мкл** | 80 | 90 | 100 | 110 | 120 | 130 | 140 | 150 | 160 | 170 | 180 | 190 | 200 | 210 | 220 |
| **Смесь ПЦР-смеси-2-FRT и полимеразы (TaqF), мкл** | 40 | 45 | 50 | 55 | 60 | 65 | 70 | 75 | 80 | 85 | 90 | 95 | 100 | 105 | 110 |
| **Число исследуемых образцов** | **19** | **20** | **21** | **22** | **23** | **24** | **25** | **26** | **27** | **28** | **29** | **30** | **31** | **32** | **33** |
| **ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11, мкл** | 230 | 240 | 250 | 260 | 270 | 280 | 290 | 300 | 310 | 320 | 330 | 340 | 350 | 360 | 370 |
| **Смесь ПЦР-смеси-2-FRT и** | 115 | 120 | 125 | 130 | 135 | 140 | 145 | 150 | 155 | 160 | 165 | 170 | 175 | 180 | 185 |



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

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **полимеразы (TaqF), мкл** | | | | | | | | | | | | | | | |

Примечание – Расчет приведен для образцов в соответствие с формулой: n + 4, где n – количество исследуемых клинических образцов, 4 – контроли ПЦР анализа, из которых 1 контроль этапа экстракции, 2 контроля этапа ПЦР и запас на одну пробирку.

4. Отобрать необходимое количество пробирок для амплификации ДНК исследуемых образцов и контролей. Внести в каждую пробирку по **15 мкл** приготовленной смеси.
5. На поверхность добавить каплю **минерального масла для ПЦР** (масло рекомендуется добавлять вне зависимости от типа амплификатора).
6. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых или контрольных образцов.
7. Поставить **контрольные реакции**:
   а) **отрицательный контроль ПЦР (К–)** – внести в пробирку **10 мкл ДНК-буфера**.
   б) **положительный контроль ПЦР (К+)** – внести в пробирку **10 мкл ПКО ДНК ВПЧ 6, 11 типов и ДНК человека**.
   в) **отрицательный контроль экстракции (В–) –** внести в пробирку **10 мкл** пробы, выделенной из ОКО.

**А2. Подготовка пробирок для проведения амплификации при помощи комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP**

**Общий объем реакционной смеси – 30 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.**

1. Приготовить образцы **«Фон». Необходимо готовить 2 фоновых образца**:
   - **При использовании одного из рекомендованных комплектов реагентов для экстракции ДНК:** в две пробирки на поверхность воска внести **20 мкл ПЦР-смеси-Фон-red**. На поверхность добавить каплю **минерального масла для ПЦР** (масло рекомендуется добавлять вне зависимости от типа амплификатора).
   - **При использовании других наборов реагентов для экстракции ДНК** необходимо следовать инструкции к используемому набору.

   **ВНИМАНИЕ!** После проведения амплификации образцы «Фон» можно хранить в течение 1 мес при температуре от 2 до 20 °С и использовать многократно.



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

Многократное использование пробирок «Фон» допускается при условии их использования с набором реагентов той же серии, того же типа выделительных реагентов и того же типа пробирок для амплификации.

2. Отобрать необходимое количество пробирок с **ПЦР-смесью-1-FL ВПЧ 6/11** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.
3. На поверхность воска внести по **10 мкл ПЦР-смеси-2-FL-red,** при этом она не должна проваливаться под воск и смешиваться с **ПЦР-смесью-1-FL ВПЧ 6/11**.
4. На поверхность добавить каплю **минерального масла для ПЦР** (масло рекомендуется добавлять вне зависимости от типа амплификатора).
5. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл проб ДНК**, полученных в результате экстракции из исследуемых или контрольных образцов.
6. Поставить **контрольные реакции**:
   **а) отрицательный контроль ПЦР (К–)** – внести в пробирку **10 мкл ДНК-буфера**.
   **б) положительный контроль ПЦР (К+)** – внести в пробирку **10 мкл ПКО ДНК ВПЧ 6, 11 типов и ДНК человека**.
   **в) отрицательный контроль экстракции (В–) –** внести в пробирку **10 мкл** пробы, выделенной из ОКО.

**Б. Проведение амплификации**

1. Запустить на амплификаторе соответствующую программу (см. табл. 2, 3).
2. Когда температура в ячейках достигнет 95 °С (режим паузы), поставить пробирки в ячейки амплификатора и нажать кнопку продолжения программы. Рекомендуется перед постановкой в амплификатор осадить капли со стенок пробирок коротким центрифугированием на вортексе (2-3 с).

Таблица 2

**Программа амплификации «АмплиСенс-1-FEP-F»:**

| | «Терцик» | | | GeneAmp PCR System 2700 | | | Gradient Palm Cycler, MaxyGene | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Цикл | Температура | Время | Циклы | Температура | Время | Циклы | Температура | Время | Циклы |
| 0 | 95 °С | Пауза | | 95 °С | Пауза | | 95 °С | Пауза | |
| 1 | 95 °С | 15 мин | 1 | 95 °С | 15 мин | 1 | 95 °С | 15 мин | 1 |
| 2 | 95 °С | 2 с | 35 | 95 °С | 20 с | 20 | 95 °С | 2 с | 24 |
| | 65 °С | 5 с | | 65 °С | 25 с | | 65 °С | 10 с | |
| | 72 °С | 5 с | | 72 °С | 30 с | | 72 °С | 10 с | |
| 3 | 95 °С | 2 с | 9 | 95 °С | 20 с | 24 | 95 °С | 2 с | 20 |
| | 60 °С | 10 с | | 60 °С | 30 с | | 60 °С | 15 с | |
| | 72 °С | 5 с | | 72 °С | 30 с | | 72 °С | 10 с | |



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

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 4 | 95 °C | 2 с | 1 | 95 °C | 20 с | 1 | 95 °C | 2 с | 1 |
| | 60 °C | 10 с | | 60 °C | 30 с | | 60 °C | 15 с | |
| 5 | 10 °C | хранение | | 10 °C | хранение | | 10 °C | хранение | |

Примечание – Данная программа используется при работе **только** с «ПЦР-комплектом» **вариант FEP-100 F**.

Таблица 3

**Программа амплификации «АмплиСенс-1-FEP»:**

| | «Терцик» | | | GeneAmp PCR System 2700 | | | Gradient Palm Cycler, MaxyGene | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Цикл | Температура | Время | Циклы | Температура | Время | Циклы | Температура | Время | Циклы |
| 0 | 95 °C | Пауза | | 95 °C | Пауза | | 95 °C | Пауза | |
| 1 | 95 °C | 5 мин | 1 | 95 °C | 5 мин | 1 | 95 °C | 5 мин | 1 |
| 2 | 95 °C | 2 с | 35 | 95 °C | 20 с | 20 | 95 °C | 2 с | 24 |
| | 65 °C | 5 с | | 65 °C | 25 с | | 65 °C | 10 с | |
| | 72 °C | 5 с | | 72 °C | 30 с | | 72 °C | 10 с | |
| 3 | 95 °C | 2 с | 9 | 95 °C | 20 с | 24 | 95 °C | 2 с | 20 |
| | 60 °C | 10 с | | 60 °C | 30 с | | 60 °C | 15 с | |
| | 72 °C | 5 с | | 72 °C | 30 с | | 72 °C | 10 с | |
| 4 | 95 °C | 2 с | 1 | 95 °C | 20 с | 1 | 95 °C | 2 с | 1 |
| | 60 °C | 10 с | | 60 °C | 30 с | | 60 °C | 15 с | |
| 5 | 10 °C | хранение | | 10 °C | хранение | | 10 °C | хранение | |

Примечание – Данная программа используется при работе **только** с «ПЦР-комплектом» **вариант FEP**.

**ВНИМАНИЕ!** Если данный комплект реагентов используется совместно с набором реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-FL 2х» или «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-FL 3х», то возможно использование единой программы амплификации (см. табл.4).

Таблица 4

**Программа амплификации ДНК ВПЧ**
**16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 52, 58,59,67 генотипов**

| | Амплификаторы с активным регулированием (по раствору в пробирке): | | | | | | | | | Другие приборы | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | «Терцик» | | | GeneAmp PCR System 2700 | | | Gradient Palm Cycler; Maxygene | | | | | |
| цикл | температура | время | циклы | температура | время | циклы | температура | время | циклы | температура | время | циклы |
| 0 | 95 °C | Пауза | | 95 °C | Пауза | | 95 °C | Пауза | | 95 °C | Пауза | |



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

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 95 °C | 15 мин | 1 | 95 °C | 15 мин | 1 | 95 °C | 15 мин | 1 | 95 °C | 15 мин | 1 |
| 2 | 93 °C | 5 с | 20 | 95 °C | 10 с | 50 | 93 °C | 5 с | 50 | 95 °C | 25 с | 50 |
| | 59 °C | 5 с | | 59 °C | 20 с | | 59 °C | 10 с | | 59 °C | 25 с | |
| | 72 °C | 5 с | | 72 °C | 10 с | | 72 °C | 5 с | | 72 °C | 25 с | |
| 3 | 93 °C | 2 с | 30 | 72 °C | 1 мин | 1 | 72 °C | 1 мин | 1 | 72 °C | 1 мин | 1 |
| | 59 °C | 10 с | | 95 °C | 20 с | 1 | 95 °C | 20 с | 1 | 95 °C | 20 с | 1 |
| 4 | 10 °C | хранение | | 10 °C | хранение | | 10 °C | хранение | | 10 °C | хранение | |

3. По окончании выполнения программы амплификации приступить к детекции.

## ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ПРОДУКТОВ АМПЛИФИКАЦИИ ПО «КОНЕЧНОЙ ТОЧКЕ»

Детекция проводится с помощью флуоресцентного ПЦР-детектора (согласно инструкции к используемому прибору) путем измерения интенсивности флуоресцентного сигнала по трем каналам:

- по каналу FAM (или аналогичному, в зависимости от модели прибора) регистрируется сигнал о накоплении продукта амплификации ДНК ВПЧ 6 генотипа,
- по каналу HEX (или аналогичному, в зависимости от модели прибора) регистрируется сигнал о накоплении продукта амплификации ДНК ВПЧ 11 генотипа,
- по каналу ROX (или аналогичному, в зависимости от модели прибора) регистрируется сигнал о накоплении продукта амплификации ДНК ВКО.

**Учет результатов теста**

| Канал | FAM | HEX | ROX |
|---|---|---|---|
| Результат | ВПЧ 6 | ВПЧ 11 | ВКО |

**ВНИМАНИЕ!** До проведения детекции в программное обеспечение ПЦР-детектора должны быть внесены и сохранены соответствующие настройки – см. вкладыш к ПЦР-комплекту, а также методические рекомендации по применению набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6 и 11 генотипов в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ВПЧ 6/11-FL», разработанные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.



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

## ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты интерпретируют на основании данных об уровне флуоресцентного сигнала относительно фона по соответствующим каналам для контрольных образцов и проб ДНК, выделенных из клинических образцов. Интерпретация производится автоматически с помощью программного обеспечения используемого прибора. Принцип интерпретации результатов следующий (см. табл. 5):

- значения менее установленного порогового значения отрицательного результата принимаются **отрицательными**, более установленного порогового значения положительного результата – **положительными**, между порогами – **сомнительными**;
- положительный результат по каналу FAM свидетельствует о наличии в пробе **ДНК ВПЧ 6 генотипа**;
- положительный результат по каналу HEX свидетельствует о наличии в пробе **ДНК ВПЧ 11 генотипа**;
- результат исследования **невалидный**, если для данной пробы сигнал по каналу ROX ниже установленного порогового значения.

Таблица 5

**Общая интерпретация результатов исследования**

| FAM (ВПЧ 6) | JOE (ВПЧ 11) | ROX (ВКО) | Результат |
|---|---|---|---|
| - | - | + | **ВПЧ 6, 11 генотипов не обнаружен** |
| + | - | + | **Обнаружен ВПЧ 6 генотипа** |
| + | - | - | |
| - | + | + | **Обнаружен ВПЧ 11 генотипа** |
| - | + | - | |
| + | + | + | **Обнаружен ВПЧ 6, 11 генотипов** |
| + | + | - | |
| - | - | - | **Результат невалидный** |

**Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для положительного и отрицательного контролей амплификации и отрицательного контроля экстракции ДНК, в соответствии с табл. 6**.



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

Таблица 6

**Результаты для контролей различных этапов ПЦР-исследования**

| Контроль | Контролируемый этап ПЦР-исследования | Сигнал по каналу | | | Обозначение результата в программах некоторых детекторов |
|---|---|---|---|---|---|
| | | FAM | HEX | ROX | |
| В– | Экстракция ДНК | **Ниже** порогового значения отрицательного результата | **Ниже** порогового значения отрицательного результата | **Ниже** порогового значения | «нд» |
| К– | ПЦР | **Ниже** порогового значения отрицательного результата | **Ниже** порогового значения отрицательного результата | **Ниже** порогового значения | «нд» |
| К+ | ПЦР | **Выше** порогового значения положительного результата | **Выше** порогового значения положительного результата | **Выше** порогового значения | «+» или «ОК» |

Примечание – Пороговые значения указаны во вкладыше к ПЦР-комплекту.

**ВНИМАНИЕ!**

1. При получении **сомнительного результата** необходимо повторить амплификацию и детекцию соответствующих образцов.
2. Если для положительного контроля ПЦР (К+) сигнал по каналам FAM и/или HEX ниже порогового значения положительного результата, то необходимо повторить амплификацию и детекцию для всех образцов, в которых не обнаружена ДНК ВПЧ.
3. При получении **невалидного результата** необходимо повторить ПЦР-исследование для соответствующих образцов, начиная с этапа экстракции. В случае получения воспроизводимого невалидного значения результат считается невалидным.
4. Если для отрицательного контроля экстракции ДНК (В-) и/или отрицательного контроля ПЦР (К-) сигнал по любому из каналов выше порогового значения положительного результата, то это свидетельствует о наличии контаминации реактивов или образцов. В этом случае результаты анализа по всем образцам считаются недействительными. Требуется повторить анализ всех образцов, в которых обнаружена ДНК ВПЧ, начиная с этапа экстракции ДНК, а также предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации.



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

**ФОРМАТ FRT**

**СОСТАВ**

**Комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» вариант 100** – комплект реагентов для экстракции ДНК из клинического материала – **включает:**

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **Лизирующий раствор** | Прозрачная бесцветная жидкость[4] | 30 | 1 флакон |
| **Отмывочный раствор** | Прозрачная бесцветная жидкость | 100 | 1 флакон |
| **Сорбент универсальный** | Суспензия белого цвета | 1,0 | 2 пробирки |
| **ТЕ-буфер для элюции ДНК** | Прозрачная бесцветная жидкость | 5,0 | 2 пробирки |

Комплект реагентов рассчитан для экстракции ДНК из 100 проб, включая контроли. Входит в состав формы комплектации 3, 4.

**Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F** – комплект реагентов для амплификации и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6 и 11 генотипов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» **– включает:**

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,3 | 4 пробирки |
| **ПЦР-смесь-2-FRT** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,3 | 2 пробирки |
| **Полимераза (TaqF)** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,03 | 2 пробирки |
| **ПКО ДНК ВПЧ 6, 11 типов и ДНК человека** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,2 | 1 пробирка |
| **ДНК-буфер** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,5 | 1 пробирка |

Комплект реагентов рассчитан на проведение 110 реакций амплификации, включая контроли. Входит в состав форм комплектации 1, 3.

К комплекту реагентов прилагается контрольный образец этапа экстракции:

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **ОКО** | Прозрачная бесцветная жидкость | 1,2 | 1 пробирка |

[4] При хранении лизирующего раствора при температуре от 2 до 8 °С возможно образование осадка в виде кристаллов.



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

**Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT** – комплект реагентов для амплификации и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6 и 11 генотипов с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» – **включает:**

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11** раскапана под воск | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,01 | 110 пробирок объемом 0,2 мл |
| **ПЦР-смесь-2-FL-red** | Прозрачная жидкость красного цвета | 1,1 | 1 пробирка |
| **ПКО ДНК ВПЧ 6, 11 типов и ДНК человека** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,2 | 1 пробирка |
| **ДНК-буфер** | Прозрачная бесцветная жидкость | 0,5 | 1 пробирка |

Комплект реагентов рассчитан на проведение 110 реакций амплификации, включая контроли. Входит в состав форм комплектации 2, 4.

К комплекту реагентов прилагается контрольный образец этапа экстракции:

| *Реактив* | *Описание* | *Объем, мл* | *Кол-во* |
|---|---|---|---|
| **ОКО** | Прозрачная бесцветная жидкость | 1,2 | 1 пробирка |

**ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЯ**

ПЦР-исследование состоит из следующих этапов:

- Экстракция ДНК из исследуемых образцов.
- Проведение ПЦР-амплификации с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».
- Анализ и интерпретация результатов.

Детальная информация по процедуре проведения ПЦР-исследования в зависимости от типа используемого оборудования изложена в методических рекомендациях по применению набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК вирусов папилломы человека (ВПЧ) 6 и 11 генотипов в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® ВПЧ 6/11-FL», разработанных ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.



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

## ЭКСТРАКЦИЯ ДНК ИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для экстракции ДНК используются комплекты реагентов, рекомендованные ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, в соответствии с инструкцией к используемому комплекту.

При использовании форм выпуска набора 3, 4 для экстракции ДНК используется входящий в набор комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ». Порядок работы см. в **приложении 1** «Экстракция ДНК с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб-АМ».

## ПРОВЕДЕНИЕ АМПЛИФИКАЦИИ С ДЕТЕКЦИЕЙ В РЕЖИМЕ «РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ»

### А. Подготовка пробирок для амплификации

**Выбор пробирок для амплификации зависит от используемого амплификатора.**

**Для внесения в пробирки реагентов, проб ДНК и контрольных образцов используются одноразовые наконечники с фильтрами.**

### А1. Подготовка пробирок для проведения амплификации при помощи комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT-100 F

**Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.**

1. Подготовить **смесь ПЦР-смеси-2-FRT** и **полимеразы (TaqF)**. Для этого содержимое одной пробирки с **полимеразой (TaqF) (30 мкл)** необходимо полностью перенести в пробирку с **ПЦР-смесью-2-FRT (300 мкл)** и аккуратно перемешать на вортексе, не допуская образования пены. Промаркировать пробирку, указав дату приготовления смеси.

   **ВНИМАНИЕ!** Приготовленная смесь рассчитана на исследование **60** образцов. Смесь хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение 3 мес и использовать по мере необходимости.

2. Подготовить реакционную смесь (см. табл. 7). При расчете следует учитывать, что исследование даже одного образца сопровождается постановкой трех контрольных точек. Кроме того, необходимо брать реагенты **с запасом**: рассчитывать на одну реакцию больше.

   Расчет производится исходя из того, что на каждую постановку ПЦР требуется:

   – 10 мкл **ПЦР-смеси-1-FL ВПЧ 6/11**;



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

– 5 мкл **смеси ПЦР-смеси-2-FRT и полимеразы (TaqF).**

Таблица 7

**Схема приготовления реакционных смесей**

| **Число исследуемых образцов** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** | **11** | **12** | **13** | **14** | **15** | **16** | **17** | **18** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11, мкл** | 80 | 90 | 100 | 110 | 120 | 130 | 140 | 150 | 160 | 170 | 180 | 190 | 200 | 210 | 220 |
| **Смесь ПЦР-смеси-2-FRT и полимеразы (TaqF), мкл** | 40 | 45 | 50 | 55 | 60 | 65 | 70 | 75 | 80 | 85 | 90 | 95 | 100 | 105 | 110 |
| **Число исследуемых образцов** | **19** | **20** | **21** | **22** | **23** | **24** | **25** | **26** | **27** | **28** | **29** | **30** | **31** | **32** | **33** |
| **ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11, мкл** | 230 | 240 | 250 | 260 | 270 | 280 | 290 | 300 | 310 | 320 | 330 | 340 | 350 | 360 | 370 |
| **Смесь ПЦР-смеси-2-FRT и полимеразы (TaqF), мкл** | 115 | 120 | 125 | 130 | 135 | 140 | 145 | 150 | 155 | 160 | 165 | 170 | 175 | 180 | 185 |

Примечание – Расчет приведен для образцов в соответствие с формулой: n + 4, где n – количество исследуемых клинических образцов, 4 – контроли ПЦР анализа, из которых 1 контроль этапа экстракции, 2 контроля этапа ПЦР, и запас на одну пробирку.

3. Отобрать необходимое количество пробирок для амплификации ДНК исследуемых образцов и контролей. Внести в пробирки по **15 мкл** приготовленной смеси.
4. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл ДНК-проб**, полученных в результате экстракции из исследуемых или контрольных образцов.
5. Поставить **контрольные реакции**:
   **а) отрицательный контроль ПЦР (К–)** – внести в пробирку **10 мкл ДНК-буфера**.
   **б) положительный контроль ПЦР (К+)** – внести в пробирку **10 мкл ПКО ДНК ВПЧ 6, 11 типов и ДНК человека**.
   **в) отрицательный контроль экстракции (В–) –** внести в пробирку **10 мкл** пробы, выделенной из ОКО.

## А2. Подготовка пробирок для проведения амплификации при помощи комплекта реагентов «ПЦР-комплект» вариант FRT



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

**Общий объем реакционной смеси – 30 мкл, включая объем пробы ДНК – 10 мкл.**

1. Отобрать необходимое количество пробирок с **ПЦР-смесью-1-FL ВПЧ 6/11** для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб.
2. На поверхность воска внести по **10 мкл ПЦР-смеси-2-FL-red,** при этом она не должна проваливаться под воск и смешиваться с **ПЦР-смесью-1-FL ВПЧ 6/11**.
3. В подготовленные пробирки внести по **10 мкл ДНК-проб**, полученных в результате экстракции из исследуемых или контрольных образцов.
4. Поставить **контрольные реакции амплификации**:
   **а) отрицательный контроль ПЦР (К-)** – внести в пробирку **10 мкл ДНК-буфера**.
   **б) положительный контроль ПЦР (К+)** – внести в пробирку **10 мкл ПКО ДНК ВПЧ 6, 11 типов и ДНК человека**.
   **в) отрицательный контроль экстракции (В-) –** внести в пробирку **10 мкл** пробы, выделенной из ОКО.

**Б. Проведение амплификации с детекцией в режиме «реального времени»**

1. Запрограммировать прибор (амплификатор с системой детекции в режиме «реального времени») для выполнения соответствующей программы амплификации и детекции флуоресцентного сигнала **«АмплиСенс-1»** (см. табл. 8).

Таблица 8

**Программа амплификации «АмплиСенс-1»**

| Этап | Приборы роторного типа[5] | | | Приборы планшетного типа[6] | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Температура, °С | Время | Число повторов циклов | Температура, °С | Время | Число повторов циклов |
| Hold/Удерж. темп-ры | 95 | 15 мин | 1 | 95 | 15 мин | 1 |
| Cycling/ Циклирование | 95 | 5 с | 5 | 95 | 5 с | 5 |
| | 60 | 20 с | | 60 | 20 с | |
| | 72 | 15 с | | 72 | 15 с | |
| Cycling2/ Циклирование 2 | 95 | 5 с | 40 | 95 | 5 с | 40 |
| | 60 | 20 с детекция флуресц. сигнала | | 60 | 30 с детекция флуоресц. сигнала | |
| | 72 | 15 с | | 72 | 15 с | |

[5] Например, Rotor-Gene 3000, Rotor-Gene 6000, Rotor-Gene Q или аналогичные.
[6] Например, iCycler iQ, iQ5; Mx3000P, Mx3005P; «ДТ-96» или аналогичные.



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

## ФОРМАТ FRT

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по каналам для флуорофоров FAM/Green, JOE/HEX/Yellow и ROX/Orange (при одновременном проведении других тестов назначается детекция и по другим используемым каналам)

**ВНИМАНИЕ!** Если данный комплект реагентов используется совместно с набором реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL», то возможно использование единой программы амплификации для приборов роторного типа (см. табл. 9) или планшетного типа (см. табл. 10, 11).

Таблица 9

| Этап | **Приборы роторного типа[5]** | | |
|---|---|---|---|
| | Температура, °С | Время | Число повторов циклов |
| Hold/Удерж. темп-ры | 95 | 15 мин | 1 |
| Hold2/Удерж. темп-ры2 | 65 | 2 мин | 1 |
| Cycling/ Циклирование | 95 | 20 с | 5 |
| | 64<br>Touchdown:<br>1 deg. per cycle /<br>Снижать темп-ру шага<br>на 1 градус каждый цикл | 25 с | |
| | 65 | 55 с | |
| Cycling2/ Циклирование 2 | 95 | 15 с | 40 |
| | 60 | 25 с | |
| | 65 | 25 с<br>детекция<br>флуресц.<br>сигнала | |

Таблица 10

| Этап | **Приборы планшетного типа: iCycler, iQ5; «ДТ-96»** | | |
|---|---|---|---|
| | Температура, °С | Время | Число повторов циклов |
| Hold/Удерж. темп-ры | 95 | 15 мин | 1 |
| Cycling/ Циклирование | 95 | 15 с | 6 |
| | 65<br>Touchdown:<br>1 deg. per cycle /<br>Снижать темп-ру шага<br>на 1 градус каждый цикл | 55 с | |
| | 65 | 25 с | |
| Cycling2/ Циклирование 2 | 95 | 15 с | 41 |
| | 60 | 55 с<br>детекция<br>флуресц. | |



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

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | сигнала | |
| | 65 | 25 с | |

Таблица 11

| Этап | **Приборы планшетного типа**: **Mx3000P, Mx3005P** | | |
|---|---|---|---|
| | Температура, °С | Время | Число повторов циклов |
| Hold/Удерж. темп-ры | 95 | 15 мин | 1 |
| Hold2/Удерж. темп-ры2 | 65 | 2 мин | 1 |
| Cycling/ Циклирование | 95 | 20 с | 5 |
| | 64 Touchdown: 1 deg. per cycle / Снижать темп-ру шага на 1 градус каждый цикл | 25 с | |
| | 65 | 55 с | |
| Cycling2/ Циклирование 2 | 95 | 20 с | 40 |
| | 60 | 25 с | |
| | 65 | 55 с детекция флуресц. сигнала | |

Детекция флуоресцентного сигнала назначается по каналам для флуорофоров FAM/Green, JOE/HEX/Yellow и ROX/Orange (при одновременном проведении других тестов назначается детекция и по другим используемым каналам).

2. Установить пробирки в ячейки реакционного модуля прибора.
3. Запустить выполнение программы амплификации с детекцией флуоресцентного сигнала.
4. По окончании выполнения программы приступить к анализу и интерпретации результатов.

## АНАЛИЗ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные – кривые накопления флуоресцентного сигнала по трём каналам – анализируются с помощью программного обеспечения используемого прибора для проведения ПЦР в режиме «реального времени». Анализируют кривые накопления флуоресцентного сигнала по трем каналам:

– по каналу **FAM/Green** (или аналогичному, в зависимости от модели прибора) регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продукта амплификации **ДНК ВПЧ 6 генотипа**.



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

- по каналу **JOE/HEX/Yellow** (или аналогичному, в зависимости от модели прибора) регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продукта амплификации **ДНК ВПЧ 11 генотипа**.
- по каналу **ROX/Orange** (или аналогичному, в зависимости от модели прибора) регистрируется сигнал, свидетельствующий о накоплении продукта амплификации ДНК человека в качестве эндогенного внутреннего контроля.

**Учет результатов теста**

| Канал | FAM/Green | JOE/HEX/Yellow | ROX/Orange |
|---|---|---|---|
| Результат | ВПЧ 6 генотипа | ВПЧ 11 генотипа | ВКО |

Результаты интерпретируются на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции **S-образной формы** с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяет наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла *Ct* в соответствующей графе в таблице результатов. Принцип интерпретации следующий (см. табл.12):

- **ДНК ВПЧ 6 генотипа обнаружена**, если по каналу для флуорофора FAM/Green получено значение *Ct*, не превышающее указанное во вкладыше;
- **ДНК ВПЧ 11 генотипа обнаружена**, если по каналу для флуорофора JOE/HEX/Yellow получено значение *Ct*, не превышающее указанное во вкладыше;
- **ДНК ВПЧ 6 и 11 генотипов не обнаружена**, если для данной пробы в таблице результатов по каналу для флуорофора FAM/Green и JOE/HEX/Yellow значение порогового цикла *Ct* не определено (отсутствует) или более указанного во вкладыше, а в таблице результатов по каналу для флуорофора ROX/Orange значение порогового цикла *Ct* не превышает указанное во вкладыше;
- результат анализа **невалидный,** если для данной пробы по каналу для флуорофора ROX/Orange значение порогового цикла *Ct* отсутствует или более указанного во вкладыше.

Таблица 12

**Общая интерпретация результатов исследования**

| FAM (ВПЧ 6) | JOE (ВПЧ 11) | ROX (ВКО) | Результат |
|---|---|---|---|
| - | - | + | **ВПЧ 6, 11 генотипов не обнаружен** |
| + | - | + | **Обнаружен ВПЧ 6 генотипа** |
| + | - | - | |



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

| | | | |
|---|---|---|---|
| - | + | + | **Обнаружен ВПЧ 11 генотипа** |
| - | + | - | |
| + | + | + | **Обнаружен ВПЧ 6, 11 генотипов** |
| + | + | - | |
| - | - | - | **Результат невалидный** |

**Результат ПЦР-исследования считается достоверным, если получены правильные результаты для положительного и отрицательного контролей амплификации и отрицательного контроля экстракции ДНК в соответствии с табл. 13**.

Таблица 13

**Результаты для контролей различных этапов ПЦР-анализа**

| **Контроль** | **Контролируемый этап ПЦР-исследования** | **Значение порогового цикла, Ct** | | |
|---|---|---|---|---|
| | | **по каналу для флуорофора FAM** | **по каналу для флуорофора JOE** | **по каналу для флуорофора ROX** |
| В- | Экстракция ДНК | Значение отсутствует | Значение отсутствует | Значение отсутствует |
| К- | ПЦР | Значение отсутствует | Значение отсутствует | Значение отсутствует |
| К+ | ПЦР | Значение ниже граничного | Значение ниже граничного | Значение ниже граничного |

Примечание – Граничные значения *Ct* указаны во вкладыше к ПЦР-комплекту.

**ВНИМАНИЕ!**

1. Появление любого значения *Ct* по каналам для флуорофоров FAM/Green, JOE/HEX/Yellow и/или ROX/Orange в таблице результатов для отрицательного контроля этапа ПЦР (К-) и/или для отрицательного контроля этапа экстракции (В-) свидетельствует о наличии контаминации реактивов или образцов. В этом случае результаты анализа по всем образцам считаются недействительными. Требуется повторить анализ всех образцов, в которых обнаружена ДНК ВПЧ, начиная с этапа экстракции ДНК, а также предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации.
2. Если значение *Ct* в таблице результатов для положительного контроля этапа ПЦР (К+) по каналам для флуорофоров FAM/Green, JOE/HEX/Yellow и/или ROX/Orange отсутствует или превышает граничное значение, то необходимо повторить амплификацию для всех образцов, в которых не обнаружена ДНК возбудителя.
3. Если для данного образца не определено значение порогового цикла *Ct* или оно превышает граничное значение по каналам FAM/Green и/или



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

JOE/HEX/Yellow, а по каналу ROX/Orange получено значение *Ct* превышающее граничное значение, необходимо провести повторный анализ, начиная с этапа экстракции. Возможная причина – ошибка в процедуре подготовки клинического материала, приведшая к потере ДНК или наличие ингибиторов ПЦР.



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

## СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ

**Срок годности.** 12 мес. Набор 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.** Набор реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут. «ПЦР-комплект» вариант FEP-100 F и вариант FRT-100 F при получении разукомплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

**Хранение.** Комплект реагентов «ДНК-сорб-АМ» хранить при температуре от 2 до 25 °С. «ПЦР-комплект» вариант FEP и вариант FRT хранить при температуре от 2 до 8 °С. Комплект реагентов «ПЦР-комплект» вариант FEP-100 F и вариант FRT-100 F (кроме полимеразы (TaqF), ПЦР-смеси-1-FL ВПЧ 6/11 и ПЦР-смеси-2-FRT) хранить при температуре от 2 до 8 °С. Полимеразу (TaqF), ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11 и ПЦР-смесь-2-FRT хранить при температуре не выше минус 16 °С. ПЦР-смесь-1-FL ВПЧ 6/11 в защищенном от света месте.

**Условия отпуска.** Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на качество набора реагентов «АмплиСенс® ВПЧ 6/11-FL» направлять на предприятие-изготовитель ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (111123 г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а) в отдел по работе с рекламациями и организации обучения (тел. (495) 974-96-46, факс (495) 916-18-18, e-mail: products@pcr.ru)[7].

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

Главный врач ФГБУ «Поликлиника №1»
Управления делами Президента
Российской Федерации — Е.Л.Никонов

[7] 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

**ПРИЛОЖЕНИЕ 1**

**ЭКСТРАКЦИЯ ДНК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КОМПЛЕКТА РЕАГЕНТОВ «ДНК-сорб-АМ»**

**Порядок работы.**

1. Лизирующий раствор (если он хранился при температуре от 2 до 8 °С) прогреть, перемешивая при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
2. Добавление реагентов.

**Способ 1:**

- отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом **1,5 мл** (включая отрицательный контроль экстракции).
- ресуспендировать **сорбент универсальный** до гомогенной консистенции, внести в каждую пробирку по **300 мкл лизирующего раствора** и по **20 мкл сорбента универсального**, используя наконечники с фильтром. Промаркировать пробирки.

**Способ 2:**

- перед началом работы во флакон с лизирующим раствором добавить весь объем (2 мл на 30 мл лизирующего раствора) предварительно гомогенизированного сорбента универсального и перемешать. Допускается хранение полученной смеси в течение 2 сут при комнатной температуре. Перед применением тщательно перемешать.
- отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом **1,5 мл** (включая отрицательный контроль экстракции) и, используя наконечник с фильтром, внести в каждую пробирку по **320 мкл** подготовленной смеси **лизирующего раствора** и **сорбента универсального**. Промаркировать пробирки.

3. В пробирки согласно маркировке внести по **100 мкл** пробы, используя для каждой пробы отдельный наконечник с фильтром. В пробирку отрицательного контроля (В-) экстракции внести **100 мкл ОКО**, используя наконечник с фильтром.
4. Содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе и инкубировать **5 мин при температуре 65 °С** в термостате. После окончания инкубации



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

перемешать на вортексе и поставить в штатив на **2 мин**.

5. Осадить сорбент универсальный в пробирках центрифугированием при **10 тыс об/мин в течение 30 с**. Не захватывая сорбент универсальный, удалить надосадочную жидкость в колбу-ловушку с помощью вакуумного отсасывателя, используя для каждой пробы отдельный наконечник без фильтра.
6. Добавить в пробы по **1 мл отмывочного раствора,** перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента универсального.
7. Повторить п. 5.
8. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **5-10 мин** для подсушивания сорбента универсального. При этом крышки пробирок должны быть открыты.
9. В пробирки добавить по **100 мкл ТЕ-буфера для элюции ДНК**. Перемешать на вортексе до полного ресуспендирования сорбента универсального. Поместить в термостат с температурой **65 °С на 5 мин**.
10. Перемешать на вортексе. Центрифугировать пробирки при **12 тыс об/мин** в течение **1 мин** на микроцентрифуге. Надосадочная жидкость содержит очищенную ДНК (ДНК-проба). Указанный материал готов к постановке ПЦР.

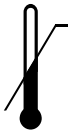
**ДНК-пробы можно хранить в течение 1 нед при температуре от 2 до 8 °С и в течение года при температуре не выше минус 16 °С.**

Пробирки с ДНК-пробами переносят в зону ПЦР-амплификации.



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

## СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ

| | | | |
|---|---|---|---|
| REF | Номер в каталоге |  | Осторожно! Обратитесь к сопроводительной документации |
| LOT | Код партии |  | Максимальное число тестов |
| IVD | Изделие для in vitro диагностики |  | Использовать до |
| VER | Дата изменения |  | Обратитесь к руководству по эксплуатации |
|  | Ограничение температуры |  | Не допускать попадания солнечного света |
|  | Верхнее ограничение температуры |  | Дата изготовления |
|  | Производитель | | |



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