АмплиПрайм

IVD

Набор реагентов для экстракции ДНК и РНК из биологического материала
«МагноПрайм® Ультра» по ТУ 21.20.23-163-09286667-2022

МагноПрайм® Ультра

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2,
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

НекстБИО
Биотехнологическая компания

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

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ 3
1. НАЗНАЧЕНИЕ 4
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА 4
2.1.Формы выпуска, состав и комплектность 4
2.2.Принцип метода 6
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА 6
3.1.Отрицательный и положительный контроли экстракции НК 6
3.2.Контроль ингибирования 7
3.3.Мониторинг лаборатории на наличие контаминации 7
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ 7
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ 8
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ 11
6.1.Взятие и предварительная обработка исследуемого материала 11
6.2.Автоматическая методика экстракции НК 11
6.3.Ручная методика экстракции НК 11
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ 12
8. ЭКСТРАКЦИЯ НК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА 13
8.1.Автоматическая методика экстракции НК из 200 мкл биологического образца 13
8.2.Автоматическая методика экстракции НК из 1000 мкл биологического образца 15
8.3.Ручная методика экстракции НК с использованием магнитного штатива из 200 мкл биологического образца 17
8.4.Ручная методика экстракции НК с использованием магнитного штатива из 1000 мкл биологического образца 19
8.5.Ручная методика экстракции НК с использованием центрифугирования из 200 мкл биологического образца 21
8.6.Ручная методика экстракции НК с использованием центрифугирования из 1000 мкл биологического образца 23
8.7.Хранение очищенных НК 25
9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА 25
9.1.Чистота экстрагированных НК 25
9.2.Влияние интерферирующих веществ и ДНК человека 25
10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА 26
10.1. Срок годности 26
10.2. Транспортирование 26
10.3. Хранение 26
11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 26
12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ 27

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

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВКО	–	внутренний контрольный образец
НК	–	нуклеиновая кислота
ДНК	–	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	–	дезоксирибонуклеаза
ПКО	–	положительный контрольный образец
ОКО	–	отрицательный контрольный образец экстракции
ОТ-ПЦР	–	обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция
ТУ	–	технические условия
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
РНК	–	рибонуклеиновая кислота
РНКаза	–	рибонуклеаза
РУ	–	регистрационное удостоверение

НАИМЕНОВАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

Набор реагентов для экстракции ДНК и РНК из биологического материала «МагноПрайм® Ультра» по ТУ 21.20.23-163-09286667-2022.

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «МагноПрайм® Ультра», а также сокращение Набор реагентов.

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «МагноПрайм® Ультра» предназначен для экстракции ДНК и РНК из плазмы крови для последующего анализа методом ПЦР или ОТ-ПЦР.

Набор может использоваться для ручной экстракции с использованием магнитного штатива или центрифугирования, а также совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что запрограммирована последовательность действий, изложенная в данной инструкции.

1.2. Материалом для проведения экстракции служат пробы биологического материала, указанного в разделе инструкции «Исследуемый материал»[1].

1.3. Функциональное назначение: Набор реагентов предназначен для использования в качестве вспомогательного средства для диагностики *in vitro* (выделение нуклеиновых кислот из биологического материала для дальнейшего исследования методом ПЦР или ОТ-ПЦР).

1.4. Показания к проведению исследования: Набор реагентов используется в клинической лабораторной диагностике, как вспомогательное средство для выделения нуклеиновых кислот при скрининговом исследовании и мониторинге терапии инфекционных заболеваний, методом ПЦР или ОТ-ПЦР.

1.5. Применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

1.6. Потенциальные пользователи: Набор реагентов должен использоваться только квалифицированным, обученным (в области клинической лабораторной диагностики) персоналом (врачи клинической лаборатории и медицинские лабораторные техники, обученные молекулярным биологическим методикам).

1.7. Применять набор реагентов строго по назначению согласно инструкции по применению.

1.8. Противопоказания к применению: Нарушение целостности упаковки, истекший срок годности, несоблюдение требований инструкции, биологический материал, не соответствующий требованиям данной инструкции.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Формы выпуска, состав и комплектность

Набор выпускается в двух формах (состав набора и комплектность поставки указаны в таблице 1 и 2 соответственно). Все формы предназначены для проведения экстракции ДНК и РНК из биологического материала.

Форма выпуска 1 предназначена для выделения НК из 200 мкл биологического материала и рассчитана на проведение экстракции НК из 96 образцов, включая контроли. Форма может быть использована как для ручной экстракции, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции НК.

Форма выпуска 2 предназначена для выделения НК из 1000 мкл биологического материала и рассчитана на проведение экстракции НК из 96 образцов, включая контроли. Форма может быть использована как для ручной экстракции, так и совместно с автоматическими станциями для экстракции НК.

[1] Допустимо проведение экстракции НК из других видов биологического материала и объемов исследуемого образца, согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

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

Таблица 1

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Форма выпуска 1			
Буфер U1[2]  Опасно	35	1 флакон	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость[3].
Буфер U2[2]  Опасно	80	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость[3].
Буфер U3[2]  Опасно	80	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер U4[2]  Опасно	25	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Реагент U[2]  Опасно	1,1	1 пробирка	Вспомогательный реагент для проведения лизиса. Прозрачная жидкость.
МГС	1,1	1 пробирка	Сорбент (магнетизированная силика). Суспензия.
Буфер E1	15	1 флакон	Раствор для элюции. Прозрачная жидкость.
ОКО	4,5	1 пробирка	Отрицательный контроль экстракции. Прозрачная жидкость.
Форма выпуска 2			
Буфер U1[2]  Опасно	75	2 флакона	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость[3].
Буфер U2[2]  Опасно	80	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость[3].
Буфер U3[2]  Опасно	80	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер U4[2]  Опасно	25	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Реагент U[2]  Опасно	1,1	4 пробирки	Вспомогательный реагент для проведения лизиса. Прозрачная жидкость.
МГС	1,1	4 пробирки	Сорбент (магнетизированная силика). Суспензия.
Буфер E1	15	1 флакон	Раствор для элюции. Прозрачная жидкость.
ОКО	4,5	4 пробирки	Отрицательный контроль экстракции. Прозрачная жидкость.

[2] Реагенты содержат опасные вещества. Информацию по опасным веществам и мерам предосторожности при работе с реагентами см. в разделе инструкции «Меры предосторожности и предупреждения».

[3] При хранении Буфера U1 и Буфера U2 возможно образование осадка в виде кристаллов.

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

Таблица 2

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов (форма выпуска 1 или 2)	-	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде[4] на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	-
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru	-

2.2. Принцип метода

Исследуемый образец в объеме 200 мкл или 1000 мкл обрабатывается лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики – магнитного сорбента. В результате происходит деструкция клеточных мембран, вирусных оболочек и других биополимерных комплексов и высвобождение нуклеиновых кислот (НК). Растворенные НК связываются с частицами сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются при осаждении сорбента на магнитном штативе/стержне или с использованием центрифуги и с последующей отмывкой сорбента. При добавлении буфера для элюции НК к магнитному сорбенту происходит переход НК с поверхности силики в раствор, который затем отделяется от частиц сорбента магнитной силой либо центрифугированием.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль этапа экстракции НК осуществляется одновременно с оценкой достоверности результатов этапа амплификации.

3.1. Отрицательный и положительный контроли экстракции НК

Для оценки качества получаемых результатов каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы, если они предусмотрены для проведения исследования согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации:

- отрицательный контрольный образец экстракции (ОКО) для подтверждения отсутствия ложноположительных результатов и контроля контаминации. В качестве ОКО используют реагент, входящий в состав набора реагентов «МагноПрайм® Ультра»;

- положительный контрольный образец (ПКО), если он предусмотрен для проведения ПЦР-исследования. В качестве ПКО используют реагент, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации.

Результаты для контролей должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации.

[4] Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

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

3.2. Контроль ингибирования

Для оценки влияния ингибиторов на результаты амплификации в ПЦР-исследовании может использоваться экзогенный[5] и эндогенный[6] ВКО. Экзогенный ВКО необходимо добавить в каждый исследуемый и контрольный образец согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения амплификации. ВКО проходит все стадии экстракции совместно с анализируемыми образцами. Результаты исследования ВКО должны соответствовать заданным критериям валидности, указанным в инструкции по применению набора для проведения амплификации.

3.3. Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Рекомендуется раз в месяц проводить мониторинг лаборатории на контаминацию продуктами амплификации, исследуемыми образцами, положительными контрольными образцами. Оценка наличия/отсутствия контаминации проводится путем исследования смывов с различных объектов: пипеток, рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений. Взятие и исследование смывов следует проводить согласно процедуре, описанной в МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности». При обнаружении контаминации необходимо провести обработку лаборатории регламентируемыми моющими и дезинфицирующими растворами согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09. Также для предотвращения контаминации лаборатории или в качестве мер по деконтаминации рабочих зон рекомендуется использовать раствор для дезактивации нуклеиновых кислот, например, «Олигатор» производства ООО «НекстБио», Россия.

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Набор применяется только для диагностики *in vitro*.

4.2. Набор предназначен для экстракции ДНК и РНК из биологического материала, указанного в разделе «Назначение».

4.3. Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала, указанные в разделе «Исследуемый материал». Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

4.4. Набор предназначен для профессионального применения. Набор должен использоваться только квалифицированным, обученным (в области клинической лабораторной диагностики) персоналом (врачи клинической лаборатории и медицинские лабораторные техники, обученные молекулярным биологическим методикам).

4.5. Набор может применятся совместно с ПЦР-наборами для выявления НК биологических агентов, зарегистрированными в установленном порядке на территории Российской Федерации.

[5] ВКО, входящий в состав набора реагентов для проведения амплификации.

[6] В качестве эндогенного ВКО используются мишени, предусмотренные набором реагентов для проведения амплификации.

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

5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические (ПЦР) исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, с соблюдением требований СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и 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». В соответствии с п. 4.4. МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» допускается проведение исследований биологического материала (без предварительного накопления возбудителя) на наличие ДНК (РНК) возбудителей парентеральных вирусных гепатитов в лаборатории, имеющей санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями III-IV группы патогенности. Материал для исследований подлежит предварительной обработке в соответствии с методическими указаниями МУ 1.3.2569-09.

5.2. Исследования по детекции нуклеиновых кислот должны проводиться в боксированных помещениях, оборудованных системами приточной и вытяжной вентиляции или боксах микробиологической безопасности II класса.

5.3. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

- Применять набор строго по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов анализа.

- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

- Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

- Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку[7], биологический материал[8], включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

- Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром[9]. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских отходов.

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

[8] Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.

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

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

- Набор предназначен для однократного применения для проведения экстракции НК из указанного количества образцов (см. раздел «Формы выпуска, состав и комплектность»).

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21).

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

- Не смешивать реагенты разных серий.

- Не использовать набор 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.

- Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать контакта реагентов с кожей, глазами и слизистой оболочкой. Не глотать.

- При контакте немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

- Входящие в состав набора реагенты Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Реагент U содержат опасные вещества, указанные в таблице 3. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данными реагентами, описаны в таблице 3. Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности представлена в таблице 4.

Таблица 3

Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с Буфером U1, Буфером U2, Буфером U3, Буфером U4 и Реагентом U

Реагент	Опасные вещества	Заявления об опасности	Меры предосторожности
Буфер U1	изопропанол, гуанидин гидрохлорид, гуанидин тиоцианат, тритон X-100, 1-тиоглицерол	H225, H302, H311, H312, H315, H319, H332, H336, H411, H412, EUH032	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P332+P313, P337+P313, P362+P364, P370+P378, P403+P235, P501
Буфер U2	изопропанол, гуанидин тиоцианат, тритон X-100	H225, H302, H312, H319, H332, H336, H411, H412, EUH032	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501
Буфер U3	изопропанол	H225, H319, H336	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501
Буфер U4	изопропанол, ацетон	H225, H319, H336, EUH066	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501
Реагент U	протеиназа К	H315, H319, H334, H335	P261, P264, P271, P280, P284, P302+P352, P304+P340, P305+P351+P338, P312, P332+P313, P337+P313, P342+P311, P362+P364, P403+P235, P405, P501

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

Таблица 4

Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. H302: Вредно при проглатывании. H311: Токсично при контакте с кожей. H312: Вредно при контакте с кожей. H315: Вызывает раздражение кожи. H319: Вызывает серьезное раздражение глаз. H332: Вредно при вдыхании. H334: При вдыхании может вызывать аллергические или астматические симптомы, или затруднение дыхания.	H335: Может вызывать раздражение дыхательных путей. H336: Может вызвать вялость или сонливость. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы. EUH066: Повторяющееся воздействие может вызвать сухость или растрескивание кожи.
Меры предосторожности	
P210: Хранить вдали от источников тепла, горячих поверхностей, искр, открытого пламени и других источников воспламенения. Не курить. P233: Хранить в плотно закрытой таре. P241: Использовать взрывобезопасное электрическое оборудование. P242: Используйте только неискрящие инструменты. P261: Избегать вдыхания паров. P264: Вымойте руки после работы тщательно. P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта. P271: Используйте только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Пользоваться защитными перчатками и средствами защиты глаз. P284: В случае недостаточной вентиляции пользоваться средствами защиты органов дыхания. P302+P352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды. P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой или принять душ. P304+P340: ПРИ ВДЫХАНИИ: Свежий воздух, покой. P312: Обратиться к врачу при плохом самочувствии.	P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз, снять их и продолжить промывание водой. P332+P313: При раздражении кожи: обратиться к врачу. P337+P313: Если раздражение глаз не проходит обратиться за медицинской консультацией. P342+P311: При появлении респираторных симптомов: обратиться к врачу. P362+P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием. P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения. P403+P235: Хранить в прохладном, хорошо вентилируемом месте. P405: Хранить в недоступном для посторонних месте. P501: Утилизировать содержимое в соответствии с национальными правилами 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».

- Входящие в состав набора Буфер Е1, МГС и ОКО содержат азид натрия в концентрации не более 0,1% и соответственно не классифицируются как опасные и не требуют соблюдения специальных мер предосторожности, кроме указанных в данном разделе.

- Листы безопасности реагентов Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Реагент U доступны по запросу.

- Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека. При аварийных ситуациях возможно причинение вреда при попадании на кожу и слизистую оболочку глаз, при вдыхании и при проглатывании.

5.4. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует.

- Мутагенное действие отсутствует.

- Репродуктивная токсичность отсутствует.

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

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

6.1. Взятие и предварительная обработка исследуемого материала

Взятие и предварительную обработку исследуемого материала проводить согласно МУ 1.3.2569-09.

6.2. Автоматическая методика экстракции НК

ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые полипропиленовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКаз и РНКаз.

6.2.1. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.2.2. Вортекс.

6.2.3. Автоматическая станция для экстракции НК, зарегистрированная в РФ и удовлетворяющая следующим требованиям:

- возможность реализации последовательности этапов экстракции, описанной в разделе «Экстракция НК из исследуемого материала» (п. 8.1.2 и п. 8.2.2);
- наличие системы дозирования жидкостей;
- наличие магнитного штатива или магнитных стержней для сбора магнетизированной силики;
- наличие термостата или термошейкера с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С;
- наличие системы перемешивания жидкостей шейкированием или пипетированием;

В ходе проведения клинических испытаний валидацию прошли следующие автоматические станции для экстракции нуклеиновых кислот: Microlab STARlet (РУ № РЗН 2018/6981), KingFisher Flex (РУ № ФСЗ 2009/05562).

6.2.4. Комплект расходных материалов для автоматической станции для экстракции НК согласно инструкции Производителя.

6.2.5. Холодильник от 2 до 8 °С.

6.2.6. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.2.7. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

6.3. Ручная методика экстракции НК

6.3.1. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся пробирки и крышки к ним или плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл (при экстракции из 200 мкл исследуемого образца) или 5 мл (при экстракции из 1000 мкл исследуемого образца), свободные от ДНКаз и РНКаз.

6.3.2. Одноразовые наконечники, свободные от ДНКаз и РНКаз, для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл.

6.3.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 200 мкл.

6.3.4. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.

6.3.5. Штативы для пробирок объемом 5 мл.

6.3.6. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл - при проведении экстракции из 200 мкл исследуемого образца с использованием магнитного штатива (см. раздел «Экстракция НК из исследуемого материала», п. 8.3).

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

6.3.7. Магнитный штатив для пробирок объемом 5 мл - при проведении экстракции из 1000 мкл исследуемого образца с использованием магнитного штатива (см. раздел «Экстракция НК из исследуемого материала», п. 8.4).

6.3.8. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10 000 g - при проведении экстракции из 200 мкл исследуемого образца с использованием центрифугирования (см. раздел «Экстракция НК из исследуемого материала», п. 8.5).

6.3.9. Центрифуга для пробирок объемом 5 мл с ускорением не менее 10 000 g - при проведении экстракции из 1000 мкл исследуемого образца с использованием центрифугирования (см. раздел «Экстракция НК из исследуемого материала», п. 8.6).

6.3.10. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.3.11. Вортекс.

6.3.12. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С.

6.3.13. Термостат для пробирок объемом 5 мл с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С.

6.3.14. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.

6.3.15. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.3.16. Холодильник от 2 до 8 °С.

6.3.17. Отдельный халат, шапочки, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.3.18. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Материалом для исследования служит[10]:

- плазма крови.

Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

[10] Допустимо проведение экстракции НК из других видов биологического материала и объемов исследуемого образца, согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

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

8. ЭКСТРАКЦИЯ НК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Экстракция НК должна проводиться при нормальных показателях микроклимата клинико-диагностической лаборатории[11]:

- температура окружающего воздуха от 20 до 28 °С;
- относительная влажность 40 – 75 %.

8.1. Автоматическая методика экстракции НК из 200 мкл биологического образца

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную в п. 8.1.2.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[12], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.1.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.1.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

8.1.1.2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

8.1.1.3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.

8.1.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.1.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента U**, **10 мкл МГС** и **10 мкл ВКО**[13], также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[13], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

[11] Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

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

[13] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

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

8.1.2. Процедура экстракции НК

8.1.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

а) по **30 мкл** подготовленной **смеси ВКО**, **Реагента U**, **МГС** и по **300 мкл Буфера U1**

или

б) по **330 мкл** подготовленной **смеси Реагента U**, **МГС**, **ВКО** и **Буфера U1**.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.1.2.2. Внести в пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме **200 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.3. Прогреть пробирки при температуре **65 °С** в течение **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.4. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.1.2.5. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

8.1.2.6. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**, перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.7. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.1.2.8. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.1.2.5.

8.1.2.9. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**, перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.10. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.1.2.11. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.1.2.5.

8.1.2.12. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4,** перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.13. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить пробирки в магнитный стержень на **2 мин**.

8.1.2.14. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.1.2.5.

8.1.2.15. Инкубировать пробирки при комнатной температуре в течение **10 мин**.

8.1.2.16. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера Е1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать.

8.1.2.17. Прогреть пробирки при температуре **80 °С** в течение **10 мин** с включенным перемешиванием.

8.1.2.18. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.1.2.19. Вынуть магнитный стержень с силикой из пробирок или при использовании магнитного штатива перенести надосадочную жидкость в новую пробирку или плашку.

8.1.2.20. Элюат содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

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

8.2. Автоматическая методика экстракции НК из 1000 мкл биологического образца

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную в п. 8.2.2.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[14], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.2.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.2.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

8.2.1.2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

8.2.1.3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.

8.2.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.2.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **40 мкл Реагента U, 30 мкл МГС** и **10 мкл ВКО**[15], также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[15], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.2.2. Процедура экстракции НК

8.2.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

а) по **80 мкл** подготовленной **смеси ВКО**, **Реагента U**, **МГС** и по **1300 мкл Буфера U1**

или

б) по **1380 мкл** подготовленной **смеси Реагента U**, **МГС**, **ВКО** и **Буфера U1**.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

[15] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

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

8.2.2.2. Внести в пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме **1000 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.3. Прогреть пробирки при температуре **65 °С** в течение **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.4. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.2.2.5. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

8.2.2.6. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**, перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.7. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.2.2.8. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.2.2.5.

8.2.2.9. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**, перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.10. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.2.2.11. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.2.2.5.

8.2.2.12. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**, перемешать содержимое пробирок.

8.2.2.13. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить пробирки в магнитный стержень на **2 мин**.

8.2.2.14. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.2.2.5.

8.2.2.15. Инкубировать пробирки при комнатной температуре в течение **10 мин**.

8.2.2.16. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера Е1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать.

8.2.2.17. Прогреть пробирки при температуре **80 °С** в течение **10 мин** с включенным перемешиванием.

8.2.2.18. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.

8.2.2.19. Вынуть магнитный стержень с силикой из пробирок или при использовании магнитного штатива перенести надосадочную жидкость в новую пробирку или плашку.

8.2.2.20. Элюат содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

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

8.3. Ручная методика экстракции НК с использованием магнитного штатива из 200 мкл биологического образца

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[16], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.3.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.3.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

8.3.1.2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

8.3.1.3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.

8.3.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.3.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента U**, **10 мкл МГС** и **10 мкл ВКО**[17], также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[17], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.3.2. Процедура экстракции НК

8.3.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

а) по **30 мкл** подготовленной **смеси ВКО**, **Реагента U**, **МГС** и по **300 мкл Буфера U1**

или

б) по **330 мкл** подготовленной **смеси Реагента U**, **МГС**, **ВКО** и **Буфера U1**.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

[17] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

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

8.3.2.2. Внести в пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме **200 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.3.2.4. Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.3.2.5. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

8.3.2.6. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**. Плотно закрыть крышки.

8.3.2.7. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.3.2.8. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.

8.3.2.9. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.5.

8.3.2.10. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Плотно закрыть крышки.

8.3.2.11. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.3.2.12. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.

8.3.2.13. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.5.

8.3.2.14. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**. Плотно закрыть крышки.

8.3.2.15. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.3.2.16. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.

8.3.2.17. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.5.

8.3.2.18. Инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение **10 мин** на магнитном штативе.

8.3.2.19. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации). Плотно закрыть крышки.

8.3.2.20. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.21. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °С** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.3.2.22. Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.3.2.23. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных НК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

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

8.4. Ручная методика экстракции НК с использованием магнитного штатива из 1000 мкл биологического образца

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[18], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.4.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.4.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

8.4.1.2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

8.4.1.3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.

8.4.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.4.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **40 мкл Реагента U**, **30 мкл МГС** и **10 мкл ВКО**[19], также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[19], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.4.2. Процедура экстракции НК

8.4.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 5 мл для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

а) по **80 мкл** подготовленной **смеси ВКО**, **Реагента U**, **МГС** и по **1300 мкл Буфера U1**

или

б) по **1380 мкл** подготовленной **смеси Реагента U**, **МГС**, **ВКО** и **Буфера U1**.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

[19] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

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

8.4.2.2. Внести в пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме **1000 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.4.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.4.2.4. Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.4.2.5. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы. Перенести пробирки в обычный штатив.

8.4.2.6. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**. Плотно закрыть крышки.

8.4.2.7. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая контрольные образцы). Промаркировать.

8.4.2.8. Перемешать содержимое пробирок на вортексе, затем пипетированием, и перенести все содержимое в подготовленные пробирки объемом 1,5 мл.

8.4.2.9. Поместить пробирки с открытыми крышками в магнитный штатив на **2 мин**.

8.4.2.10. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.4.2.5.

8.4.2.11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Плотно закрыть крышки.

8.4.2.12. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.4.2.13. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.

8.4.2.14. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.4.2.5.

8.4.2.15. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**. Плотно закрыть крышки.

8.4.2.16. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.4.2.17. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.

8.4.2.18. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.4.2.5.

8.4.2.19. Инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение **10 мин** на магнитном штативе.

8.4.2.20. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации). Плотно закрыть крышки.

8.4.2.21. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.4.2.22. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °С** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.4.2.23. Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.4.2.24. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных НК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

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

8.5. Ручная методика экстракции НК с использованием центрифугирования из 200 мкл биологического образца

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[20], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.5.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.5.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

8.5.1.2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

8.5.1.3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.

8.5.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.5.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента U**, **10 мкл МГС** и **10 мкл ВКО**[21], также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[21], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.5.2. Процедура экстракции НК

8.5.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

а) по **30 мкл** подготовленной **смеси ВКО**, **Реагента U**, **МГС** и по **300 мкл Буфера U1**

или

б) по **330 мкл** подготовленной **смеси Реагента U**, **МГС**, **ВКО** и **Буфера U1**.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

[21] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

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

8.5.2.2. Внести в пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме **200 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.5.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.5.2.4. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.5.2.5. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

8.5.2.6. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.5.2.7. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.5.2.8. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.5.2.5.

8.5.2.9. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.5.2.10. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.5.2.11. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.5.2.5.

8.5.2.12. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.5.2.13. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.5.2.14. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.5.2.5.

8.5.2.15. Инкубировать пробирки, оставив их с открытыми крышками в штативе при комнатной температуре в течение **10 мин**.

8.5.2.16. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера Е1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать на вортексе.

8.5.2.17. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °С** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.5.2.18. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.5.2.19. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение НК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

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

8.6. Ручная методика экстракции НК с использованием центрифугирования из 1000 мкл биологического образца

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[22], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.6.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.6.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.

8.6.1.2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

8.6.1.3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.

8.6.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.6.1.5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **40 мкл Реагента U**, **30 мкл МГС** и **10 мкл ВКО**[23], также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[23], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов, если при проведении экстракции одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

8.6.2. Процедура экстракции НК

8.6.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 5 мл для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

а) по **80 мкл** подготовленной **смеси ВКО**, **Реагента U**, **МГС** и по **1300 мкл Буфера U1**

или

б) по **1380 мкл** подготовленной **смеси Реагента U**, **МГС**, **ВКО** и **Буфера U1**.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

[23] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

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

8.6.2.2. Внести в пробирки исследуемые и контрольные образцы в объеме **1000 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.6.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.6.2.4. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.6.2.5. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы. Перенести пробирки в обычный штатив.

8.6.2.6. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**.

8.6.2.7. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая контрольные образцы). Промаркировать.

8.6.2.8. Перемешать содержимое пробирок на вортексе, затем пипетированием, и перенести все содержимое в подготовленные пробирки объемом 1,5 мл.

8.6.2.9. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.6.2.10. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.6.2.5.

8.6.2.11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.6.2.12. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.6.2.13. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.6.2.5.

8.6.2.14. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.6.2.15. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.6.2.16. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.6.2.5.

8.6.2.17. Инкубировать пробирки, оставив их с открытыми крышками в штативе при комнатной температуре в течение **10 мин**.

8.6.2.18. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера Е1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать на вортексе.

8.6.2.19. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °С** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.6.2.20. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.6.2.21. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение НК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

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

8.7. Хранение очищенных НК

Очищенная ДНК может храниться при температуре от 2 до 8 °С в течение недели, при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение 6 месяцев и при температуре не выше минус 68 °С в течение года.

Очищенная РНК может храниться при температуре от 2 до 8 °С 4 часа, при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение недели и при температуре не выше минус 68 °С в течение года.

Для хранения НК необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

9. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

9.1. Чистота экстрагированных НК

Чистота выделения НК составляет не менее 1,6 и не менее 2,4, для ДНК и РНК соответственно, при соотношении поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (260/280).

9.2. Влияние интерферирующих веществ и ДНК человека

Влияние интерферирующих веществ, потенциально содержащихся или присутствующих в исследуемом материале, на эффективность экстракции НК при использовании набора «МагноПрайм® Ультра» отсутствует. Это было показано при добавлении к образцам биологического материала интерферирующих веществ, представленных в таблице 5, в максимально возможной концентрации:

Таблица 5

Интерферирующие вещества, использованные при тестировании набора «МагноПрайм® Ультра»

Вид биоматериала	Интерферент	Концентрация интерферента в образце
Плазма крови	гемоглобин	200 мг/мл
	лактоферрин	1 мкг/мл
	иммуноглобулин G	16 мг/мл
	билирубин	200 мг/мл
	триглицериды	5000 – 30000 мг/мл
	альбумин	50000 – 60000 мг/мл
	ДНК человека	$1{,}0\times10^8$ копий/мл

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

10.УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления. После вскрытия реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

10.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Допускается транспортирование при температуре от 2 до 25 °С не более 5 суток. Не допускается замораживание реагентов. Набор реагентов при получении разукомплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

10.3. Хранение

Набор реагентов необходимо разукомплектовать. Реагент U хранить при температуре от 2 до 8 °С. Остальные реагенты хранить при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности набора. Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения. Смесь, приготовленную из Буфера U1, МГС, ВКО и Реагента U, хранить при температуре от 2 до 8 °С не более 2 месяцев.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

11. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора «МагноПрайм® Ультра» направлять в адрес производителя ООО «НекстБио»: 111394, г. Москва, ул. Полимерная, 8 стр. 2, тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru.

При выявлении нежелательных реакций при использовании набора, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при обращении и эксплуатации набора, рекомендуется направить сообщение по адресу, указанному выше, и в уполномоченную государственную регулирующую организацию (в Российской Федерации – Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) в соответствии с действующим законодательством.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru.

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

12. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

REF	Номер по каталогу		Изготовитель
LOT	Код партии		Дата изготовления
IVD	Медицинское изделие для диагностики *in vitro*		Использовать до
Σ	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению		Знаки опасности
	Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		

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

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru (для ее получения необходим доступ в интернет). Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

Краткое руководство

по применению набора реагентов для экстракции ДНК и РНК из биологического материала «МагноПрайм® Ультра» по ТУ 21.20.23-163-09286667-2022

МагноПрайм® Ультра

Форма выпуска 1

REF 110-1

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

✓ плазма крови.

ХРАНЕНИЕ ОЧИЩЕННЫХ НК

Температура	Длительность хранения	
	ДНК	РНК
2 °C … 8 °C	7 дней	4 часа
– 24 °C … – 16 °C	6 месяцев	7 дней
– 68 °C	12 месяцев	12 месяцев

ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

IVD

СОСТАВ

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество	Заявление об опасности[1]
Буфер U1[2]	Прозрачная жидкость	35	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H302: Вредно при проглатывании, H311: Токсично при контакте с кожей, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H332: Вредно при вдыхании, H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями, EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Буфер U2[2]	Прозрачная жидкость	80	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H302: Вредно при проглатывании, H312: Вредно при контакте с кожей, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H332: Вредно при вдыхании, H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями, EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Буфер U3	Прозрачная жидкость	80	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H336: Может вызвать вялость или сонливость.
Буфер U4	Прозрачная жидкость	25	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H336: Может вызвать вялость или сонливость, EUH066: Повторяющееся воздействие может вызвать сухость или растрескивание кожи.
Реагент U	Прозрачная жидкость	1,1	1 пробирка	H315: Вызывает раздражение кожи, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H334: При вдыхании может вызывать аллергические или астматические симптомы, или затруднение дыхания, H335: Может вызывать раздражение дыхательных путей.
Буфер E1	Прозрачная жидкость	15	1 флакон	–
МГС	Суспензия	1,1	1 пробирка	–
ОКО	Прозрачная жидкость	4,5	1 пробирка	–
Набор реагентов рассчитан на экстракцию НК из 96 образцов, включая контроли.				

ХРАНЕНИЕ

Условия хранения набора
Реагент U хранить при температуре от 2 до 8 °C. Остальные реагенты хранить при температуре от 2 до 25 °C. Не допускается замораживание реагентов.

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	форма выпуска 1
Инструкция по применению набора	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru
Краткое руководство	в бумажном виде
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru

[1] **ВНИМАНИЕ!** При работе с набором следует соблюдать меры предосторожности, описанные в инструкции по применению набора.
[2] При хранении Буфера U1 и Буфера U2 возможно образование осадка в виде кристаллов.

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

АВТОМАТИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную ниже.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[3], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.
4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента U**, **10 мкл МГС** и **10 мкл ВКО[4]**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[4], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

6. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

Добавляемый реагент / образец		
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС и ВКО		
Смесь Реагента U, МГС и ВКО	30 мкл[4]	в каждую пробирку
Буфер U1	300 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	200 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	200 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	200 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1		
Смесь Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1	330 мкл[4]	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	200 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	200 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	200 мкл	в пробирку для отрицательного контроля

7. Перемешать содержимое пробирок.
8. Прогреть пробирки при температуре **65 °С** в течение **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок.
9. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
10. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.
11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**, перемешать содержимое пробирок.
12. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
13. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
14. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**, перемешать содержимое пробирок.
15. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
16. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
17. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**, перемешать содержимое пробирок.
18. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить пробирки в магнитный стержень на **2 мин**.
19. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
20. Инкубировать пробирки при комнатной температуре в течение **10 мин**.
21. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать.
22. Прогреть пробирки при температуре **80 °С** в течение **10 мин** с включенным перемешиванием.
23. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
24. Вынуть магнитный стержень с силикой из пробирок или при использовании магнитного штатива перенести надосадочную жидкость в новую пробирку или плашку.
25. Элюат содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

Для хранения НК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

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

[4] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

РУЧНАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАГНИТНОГО ШТАТИВА

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[5], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.
4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента U**, **10 мкл МГС** и **10 мкл ВКО**[6], также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[6], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

6. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

Добавляемый реагент / образец		
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС и ВКО		
Смесь Реагента U, МГС и ВКО	30 мкл[6]	в каждую пробирку
Буфер U1	300 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	200 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	200 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	200 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1		
Смесь Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1	330 мкл[6]	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	200 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	200 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	200 мкл	в пробирку для отрицательного контроля

7. Перемешать содержимое пробирок.
8. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
9. Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.
10. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.
11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**. Плотно закрыть крышки.
12. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
13. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.
14. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
15. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Плотно закрыть крышки.
16. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
17. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.
18. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
19. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**. Плотно закрыть крышки.
20. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
21. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.
22. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
23. Инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение **10 мин** на магнитном штативе.
24. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), плотно закрыть крышки и перемешать на вортексе.
25. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °С** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.
26. Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.
27. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных НК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива. Для хранения НК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

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

[6] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

РУЧНАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[7], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.
4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 1,5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **10 мкл Реагента U**, **10 мкл МГС** и **10 мкл ВКО[8]**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[8], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

6. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

Добавляемый реагент / образец		
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС и ВКО		
Смесь Реагента U, МГС и ВКО	30 мкл[8]	в каждую пробирку
Буфер U1	300 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	200 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	200 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	200 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1		
Смесь Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1	330 мкл[8]	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	200 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	200 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	200 мкл	в пробирку для отрицательного контроля

7. Перемешать содержимое пробирок.
8. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
9. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
10. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.
11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
12. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
13. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
14. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
15. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
16. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
17. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
18. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
19. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
20. Инкубировать пробирки, оставив их с открытыми крышками в штативе при комнатной температуре в течение **10 мин**.
21. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), плотно закрыть крышки и перемешать на вортексе.
22. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °С** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.
23. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
24. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение НК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

Для хранения НК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

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

[8] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

ВНИМАНИЕ!

Перед использованием набора реагентов необходимо ознакомиться с инструкцией по его применению. Инструкция размещена в электронном виде на официальном сайте Производителя: www.nextbio.ru (для ее получения необходим доступ в интернет). Печатная версия инструкции доступна по запросу по телефону (495) 620-08-73.

Краткое руководство

по применению набора реагентов для экстракции ДНК и РНК из биологического материала «МагноПрайм® Ультра» по ТУ 21.20.23-163-09286667-2022

МагноПрайм® Ультра

Форма выпуска 2

REF 110-2

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

✓ плазма крови.

ХРАНЕНИЕ ОЧИЩЕННЫХ НК

Температура	Длительность хранения	
	ДНК	РНК
2 °C … 8 °C	7 дней	4 часа
– 24 °C … – 16 °C	6 месяцев	7 дней
– 68 °C	12 месяцев	12 месяцев

ООО «НекстБио», Россия, 111394,
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru

IVD

СОСТАВ

Реагент	Описание	Объем, мл	Количество	Заявление об опасности[1]
Буфер U1[2]	Прозрачная жидкость	75	2 флакона	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H302: Вредно при проглатывании, H311: Токсично при контакте с кожей, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H332: Вредно при вдыхании, H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями, EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Буфер U2[2]	Прозрачная жидкость	80	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H302: Вредно при проглатывании, H312: Вредно при контакте с кожей, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H332: Вредно при вдыхании, H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями, EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Буфер U3	Прозрачная жидкость	80	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H336: Может вызвать вялость или сонливость.
Буфер U4	Прозрачная жидкость	25	1 флакон	H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H336: Может вызвать вялость или сонливость, EUH066: Повторяющееся воздействие может вызвать сухость или растрескивание кожи.
Реагент U	Прозрачная жидкость	1,1	4 пробирки	H315: Вызывает раздражение кожи, H319: Вызывает серьезное раздражение глаз, H334: При вдыхании может вызывать аллергические или астматические симптомы, или затруднение дыхания, H335: Может вызывать раздражение дыхательных путей.
Буфер E1	Прозрачная жидкость	15	1 флакон	–
МГС	Суспензия	1,1	4 пробирки	–
ОКО	Прозрачная жидкость	4,5	4 пробирки	–
Набор реагентов рассчитан на экстракцию НК из 96 образцов, включая контроли.				

ХРАНЕНИЕ

Условия хранения набора
Реагент U хранить при температуре от 2 до 8 °C. Остальные реагенты хранить при температуре от 2 до 25 °C. Не допускается замораживание реагентов.

КОМПЛЕКТНОСТЬ

Компонент	Формат
Набор реагентов	форма выпуска 2
Инструкция по применению набора	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru
Краткое руководство	в бумажном виде
Паспорт качества	в электронном виде по адресу: www.nextbio.ru

[1] **ВНИМАНИЕ!** При работе с набором следует соблюдать меры предосторожности, описанные в инструкции по применению набора.
[2] При хранении Буфера U1 и Буфера U2 возможно образование осадка в виде кристаллов.

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

АВТОМАТИЧЕСКАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную ниже.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[3], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.
4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **40 мкл Реагента U**, **30 мкл МГС** и **10 мкл ВКО[4]**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[4], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

6. Внести в каждую пробирку объемом 5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

Добавляемый реагент / образец		
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС и ВКО		
Смесь Реагента U, МГС и ВКО	80 мкл[4]	в каждую пробирку
Буфер U1	1300 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	1000 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	1000 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	1000 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1		
Смесь Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1	1380 мкл[4]	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	1000 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	1000 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	1000 мкл	в пробирку для отрицательного контроля

7. Перемешать содержимое пробирок.
8. Прогреть пробирки при температуре **65 °С** в течение **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок.
9. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
10. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.
11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**, перемешать содержимое пробирок.
12. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
13. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
14. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**, перемешать содержимое пробирок.
15. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
16. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
17. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**, перемешать содержимое пробирок.
18. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить пробирки в магнитный стержень на **2 мин**.
19. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
20. Инкубировать пробирки при комнатной температуре в течение **10 мин**.
21. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать.
22. Прогреть пробирки при температуре **80 °С** в течение **10 мин** с включенным перемешиванием.
23. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин**.
24. Вынуть магнитный стержень с силикой из пробирок или при использовании магнитного штатива перенести надосадочную жидкость в новую пробирку или плашку.
25. Элюат содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

Для хранения НК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

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

[4] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

РУЧНАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАГНИТНОГО ШТАТИВА

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[5], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.
4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **40 мкл Реагента U**, **30 мкл МГС** и **10 мкл ВКО**[6], также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[6], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

6. Внести в каждую пробирку объемом 5 мл для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

Добавляемый реагент / образец		
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС и ВКО		
Смесь Реагента U, МГС и ВКО	80 мкл[6]	в каждую пробирку
Буфер U1	1300 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	1000 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	1000 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	1000 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1		
Смесь Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1	1380 мкл[6]	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	1000 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	1000 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	1000 мкл	в пробирку для отрицательного контроля

7. Перемешать содержимое пробирок.
8. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
9. Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.
10. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы. Перенести пробирки в обычный штатив.
11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**. Плотно закрыть крышки.
12. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая контрольные образцы). Промаркировать.
13. Перемешать содержимое пробирок на вортексе, затем пипетированием, и перенести все содержимое в подготовленные пробирки объемом 1,5 мл.
14. Поместить пробирки с открытыми крышками в магнитный штатив на **2 мин**.
15. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
16. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Плотно закрыть крышки. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
17. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.
18. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
19. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**. Плотно закрыть крышки. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
20. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин**.
21. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
22. Инкубировать пробирки с открытыми крышками при комнатной температуре в течение **10 мин** на магнитном штативе.
23. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), плотно закрыть крышки и перемешать на вортексе.
24. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °С** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.
25. Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.
26. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных НК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива. Для хранения НК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

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

[6] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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

РУЧНАЯ МЕТОДИКА ЭКСТРАКЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО и положительный контрольный образец (ПКО)[7], то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 5 мл, включая отрицательный (ОКО) и положительный (ПКО) контрольные образцы. Промаркировать.
2. Буфер U1 и Буфер U2 (если они хранились при температуре от 2 до 8 °С) прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.
3. Перемешать взбалтыванием Буфер U1, Буфер U2, Буфер U3, Буфер U4 и Буфер E1. Перемешать Реагент U, ВКО, ПКО, ОКО и осадить капли на вортексе.
4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с МГС на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.
5. Приготовить в отдельной пробирке объемом 5 мл смесь Реагента U, МГС и ВКО, добавив компоненты в объемах из расчета на один образец: **40 мкл Реагента U**, **30 мкл МГС** и **10 мкл ВКО[8]**, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь и осадить капли на вортексе.

Примечание - Допускается внесение всего содержимого пробирок с Реагентом U, МГС и объема ВКО[8], необходимого для проведения исследования 96 образцов, в Буфер U1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

6. Внести в каждую пробирку объемом 5 мл для исследуемых и контрольных (если они предусмотрены для проведения исследования) образцов:

Добавляемый реагент / образец		
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС и ВКО		
Смесь Реагента U, МГС и ВКО	80 мкл[8]	в каждую пробирку
Буфер U1	1300 мкл	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	1000 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	1000 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	1000 мкл	в пробирку для отрицательного контроля
При внесении предварительно подготовленной смеси Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1		
Смесь Реагента U, МГС, ВКО и Буфера U1	1380 мкл[8]	в каждую пробирку
Исследуемые образцы	1000 мкл	в пробирки для исследуемых образцов
ПКО	1000 мкл	в пробирку для положительного контроля
ОКО	1000 мкл	в пробирку для отрицательного контроля

7. Перемешать содержимое пробирок.
8. Поместить пробирки в термостат с температурой **65 °С** на **10 мин**. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.
9. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
10. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы. Перенести пробирки в обычный штатив.
11. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U2**.
12. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая контрольные образцы). Промаркировать
13. Перемешать содержимое пробирок на вортексе, затем пипетированием, и перенести все содержимое в подготовленные пробирки объемом 1,5 мл.
14. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
15. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера U3**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
16. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
17. Добавить в пробирки по **200 мкл Буфера U4**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.
18. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 10.
19. Инкубировать пробирки, оставив их с открытыми крышками в штативе при комнатной температуре в течение **10 мин**.
20. Добавить в пробирки **100 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), плотно закрыть крышки и перемешать на вортексе.
21. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °С** на **10 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.
22. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.
23. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ПЦР или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение НК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

Для хранения НК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

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

[8] Требуемый объем ВКО для одного образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используется несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

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