

КОПИЯ
ВЕРНА

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «Амплитек»

Ходяков

А.В. Ходяков

01.09.2021

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ЭКСТРАКЦИИ РНК ИЗ
БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ЧЕЛОВЕКА
(РНК-100)

Инструкция по применению версии 01.09.21

Лист утверждения

СОГЛАСОВАНО

Руководитель отдела разработки и
адаптации продукции ООО «Амплитек»

П.Г. Рыжих

П.Г. Рыжих

01.09.2021

Руководитель отдела разработки
документации ООО «Амплитек»

Д.А. Бурдачёва

Д.А. Бурдачёва

01.09.2021



АМПЛИТЕК

РНК-100

Набор реагентов для экстракции РНК из биологического материала человека (РНК-100)

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

IVD

Форма 1 **REF** E001-1  48

Форма 2 **REF** E001-2  96

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1 НАЗНАЧЕНИЕ	4
1.1 Область применения	4
2 ФОРМЫ ВЫПУСКА	4
3 СОСТАВ	4
4 ПРИНЦИП МЕТОДА	5
5 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ	6
6 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ	7
7 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ	9
7.1 Потенциально интерферирующие вещества	11
8 ПРОЦЕДУРА ЭКСТРАКЦИИ РНК	12
8.1 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 1 (автоматическая методика с использованием автоматической станции «Amplitech E1»)	12
8.2 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 2 (автоматическая методика с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™)	13
8.3 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием центрифугирования)	15
8.4 Хранение очищенной РНК	16
9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА	17
9.1 Контроли, используемые на этапе экстракции РНК	17
9.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации	17
10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА	17
11 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА	18
11.1 Срок годности	18
11.2 Хранение	18
11.3 Транспортирование	18
11.4 Эксплуатация	18
12 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ	18
13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ	18
14 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	20
15 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА	20
16 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ	20

ВВЕДЕНИЕ

Настоящая инструкция по применению версии 01.09.21 распространяется на медицинское изделие «Набор реагентов для экстракции РНК из биологического материала человека (РНК-100)» по ТУ 21.20.23-004-19926214-2021 (далее – набор).

Краткое наименование набора: РНК-100.

Набор следует применять в соответствии с действующей версией инструкции по применению. Для удобства работы в лаборатории допускается использовать действующую версию краткого руководства по применению набора.

Информация получена с официального сайта

Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения

www.goszdravnadzor.gov.ru

1 НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для экстракции РНК вирусов¹ из биологического материала человека, полученного от лиц с клинической симптоматикой респираторного заболевания с подозрением на инфекцию COVID-19, а также от лиц, не имеющих признаков простудных заболеваний, для последующего исследования методом ОТ-ПЦР. Для проведения экстракции РНК с помощью набора следует использовать следующие виды биологического материала:

- мазки из носоглотки и/или ротоглотки,
- мокрота,
- фекалии.

1.1 Область применения

Набор предназначен для лабораторной диагностики *in vitro* (экстракции РНК вирусов из биологического материала человека). Набор может применяться в клинико-диагностических лабораториях.

2 ФОРМЫ ВЫПУСКА

Набор выпускается в двух формах² (см. таблицу 1).

Таблица 1

Описание форм выпуска набора

Форма	Назначение	Количество исследований, в том числе для контролей
1	Для проведения экстракции РНК с применением автоматической методики с использованием автоматической станции пробоподготовки «Amplitech E1» (ООО «Амплитек»).	48
2	Для проведения экстракции РНК с применением: - ручной методики с использованием центрифугирования, - автоматической методики с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific, Финляндия).	96

3 СОСТАВ

Состав форм выпуска набора указан в таблицах 2, 3 и 4.

Таблица 2

Состав формы 1

Компонент	Количество	Внешний вид
Картридж с реагентами РНК-100	2 шт.	96-луночные планшеты с реагентами, запаянные фольгированной плёнкой
Одноразовые наконечники	48 шт.	Наконечники с фильтром
Одноразовые пробирки	48 шт.	Стрипованные или индивидуальные пробирки

¹ Например, коронавируса SARS-CoV-2 или других вирусов, при условии, что наборы реагентов, предназначенные для выявления РНК вирусов методом ОТ-ПЦР, апробированы для совместного применения с набором «РНК-100» и зарегистрированы в установленном порядке в РФ.

² Набор в форме выпуска 1 упакован в коробку из картона, в форме выпуска 2 - в полиэтиленовый пакет с застёжкой Zip-Lock.

Компонент	Количество	Внешний вид
Плёнки для картриджа	4 шт.	Клейкие плёнки
Инструкция по применению	1 шт.	В электронном виде ³ по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	1 шт.	В бумажном виде
Паспорт	1 шт.	В электронном виде ³ по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

Таблица 3

Расположение и объём реагентов в картридже, входящем в состав формы 1

Ряды ячеек	Реагент	Номинальный объём в ячейке, мл	Внешний вид	
A, E	Буфер В1 (Раствор для лизиса)	 Опасно ⁴	0,50	Прозрачная бесцветная жидкость
B, F	Реагент ME (Магнетизированная силика)		0,30	Суспензия ⁵ от коричневого до чёрного цвета
C, G	Буфер В2 (Раствор для отмывки)	 Опасно ⁴	1,40	Прозрачная бесцветная жидкость
D, H	Буфер В3 (Раствор для элюции)		1,05	Прозрачная бесцветная жидкость

Таблица 4

Состав формы 2

Компонент	Номинальный объём, мл	Количество	Внешний вид	
Буфер В1 (Раствор для лизиса)	 Опасно ⁴	48,0	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость
Реагент М (Магнетизированная силика)		0,96	1 пробирка	Суспензия ⁵ от коричневого до чёрного цвета
Буфер В2 (Раствор для отмывки)	 Опасно ⁴	68,0	2 флакона	Прозрачная бесцветная жидкость
Буфер В3 (Раствор для элюции)		101,0	1 флакон	Прозрачная бесцветная жидкость
Инструкция по применению	–	1 шт.		В электронном виде ³ по адресу: http://www.amplitech.ru/resources/
Краткое руководство	–	1 шт.		В бумажном виде
Паспорт	–	1 шт.		В электронном виде ³ по адресу: http://www.amplitech.ru/quality/

4 ПРИНЦИП МЕТОДА

Экстракция РНК проводится методом магнитной сепарации. Процедура экстракции РНК включает:

- обработку исследуемого образца лизирующим раствором;
- связывание РНК с частицами магнитного сорбента (магнетизированной силики),

³ В случае отсутствия доступа к Интернету обратитесь в службу технической поддержки по телефону (495) 374-13-46 для запроса о предоставлении бумажной версии инструкции и паспорта.

⁴ Реагенты содержат опасные вещества, информацию по которым см. в разделе 6.

⁵ В процессе хранения возможно оседание магнетизированной силики, вследствие чего образуется осадок от коричневого до чёрного цвета в прозрачном растворе.

- удаление других компонентов лизированного биологического материала последующими отмывками сорбента при осаждении магнитного сорбента с РНК под действием постоянного магнитного поля или с использованием центрифуги,
- элюцию РНК при добавлении раствора для элюции к магнитному сорбенту.

5 НЕОБХОДИМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Для работы с набором требуются оборудование и материалы, указанные в таблице 5.

Таблица 5

Оборудование и материалы, необходимые для работы с набором

Форма выпуска	Необходимое оборудование и материалы
ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКаз и РНКаз.	
Форма 1	<ul style="list-style-type: none"> • автоматическая станция пробоподготовки «Amplitech E1» (ООО «Амплитек», Россия); • бокс микробиологической безопасности класс II (тип А); • центрифуга-вортекс; • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 10 до 100 мкл; • штатив для пробирок объемом 2,0 мл; • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 10 и 100 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз; • контейнеры для элюата согласно требованиям, указанным в руководстве по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1»; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.
Автоматическая методика экстракции	
Форма 2	<ul style="list-style-type: none"> • процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher™ (Thermo Fisher Scientific, Финляндия); • бокс микробиологической безопасности класс II (тип А); • центрифуга-вортекс; • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 100 до 1000 мкл; • штатив для пробирок объемом 2,0 мл; • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 100, 200 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз; • расходные материалы для процессора магнитных частиц KingFisher™; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.
Ручная методика экстракции	
	<ul style="list-style-type: none"> • бокс микробиологической безопасности класс II (тип А); • центрифуга-вортекс; • микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10000 x g; • термостат для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С; • вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой; • дозаторы переменного объема, механические или электронные, с возможностью дозирования от 100 до 1000 мкл; • штатив для пробирок объемом 1,5 и 2,0 мл; • холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 °С до 8 °С; • микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл с крышками, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз;

Форма выпуска	Необходимое оборудование и материалы
	<ul style="list-style-type: none"> • наконечники для дозаторов переменного объема, с фильтром, объемом до 100, 200 и 1000 мкл, одноразовые, свободные от ДНКаз и РНКаз; • наконечники для дозаторов переменного объема, без фильтра, объемом до 200 мкл, одноразовые; • ёмкость для сброса и инактивации использованных материалов; • перчатки медицинские, одноразовые, неопудренные.

6 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Класс потенциального риска применения набора (согласно Приказу Министерства здравоохранения РФ № 4н от 06.06.2012) – 3.

Работа должна проводиться в лаборатории, использующей методы амплификации нуклеиновых кислот для исследования материала, с соблюдением требований ГОСТ Р 52905-2007 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

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

- К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и прошедший специальную подготовку по безопасности работы с патогенными биологическими агентами II группы патогенности.

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

- Утилизировать реагенты, входящие в состав формы 2, и плёнки для картриджа, входящие в состав формы 1, (использованные, неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения) в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Утилизировать одноразовые наконечники и одноразовые пробирки, входящие в состав формы 1, (неиспользованные, пришедшие в негодность в связи с истечением срока годности и/или несоблюдением регламентированного режима хранения, транспортирования и применения), в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса Г.

- Утилизировать биологический материал, картриджи с внесёнными образцами, а

также загрязнённые биологическим материалом расходные материалы (в том числе одноразовые наконечники и пробирки, входящие в состав набора) и инструменты в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса В.

- Утилизировать внешнюю упаковку набора и краткое руководство в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 к утилизации медицинских отходов класса А.

- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию, указанному в таблицах 2-4 для соответствующей формы выпуска набора.

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

- Не использовать набор по истечении срока годности.

- Использовать отдельный для каждого образца/реагента одноразовый наконечник с фильтром или без фильтра (при удалении надсадочной жидкости с помощью вакуумного отсасывателя).

- Использовать защитную одежду в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Все операции проводить только в одноразовых неопудренных перчатках для исключения контакта с организмом человека.

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

Реагент М, Реагент МЕ и Буфер В3 содержат натрия азид в концентрации не более 0,05 %, поэтому не классифицируются как опасные для здоровья человека и окружающей среды. При контакте немедленно промыть поражённое 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.

Буфер В1 и Буфер В2 классифицируются как опасные. Вещества, которые повлияли на их классификацию, а также коды заявлений об опасности и мер предосторожности, требуемых при работе с данными реагентами, приведены в таблице 6. Расшифровка кодов представлена в таблице 7. Листы безопасности реагентов доступны по запросу.

Таблица 6

Информация об опасных реагентах, входящих в состав набора

Реагент	Опасные вещества ⁶	Код заявления об опасности	Код меры предосторожности
Буфер В1, Буфер В2	Гуанидин гидрохлорид, гуанидин изотиоцианат, изопропанол	H225, H302, H314, H319, H336, H412, EUH032	P210, P241, P242, P243, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P301+P330+P331, P303+P361+P353, P304+P340+P312, P305+P351+P338, P332+P313, P337+P313, P363, P370+P378, P403+P233, P501

⁶ Буфер В1 и Буфер В2 содержат натрия азид в концентрации (не более 0,05 %), не влияющей на классификацию данных реагентов как опасных.

Расшифровка кодов заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость. Пары образуют с воздухом взрывоопасные смеси.	H336: Может вызывать сонливость или головокружение.
H302: Вредно при проглатывании.	H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.
H314: При попадании на кожу и в глаза вызывает химические ожоги.	EUN032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
H319: При попадании в глаза вызывает серьёзное раздражение.	
Меры предосторожности	
P210: Беречь от источников воспламенения/нагрева/искр/открытого огня. Не курить.	P304+P340+P312: ПРИ ВДЫХАНИИ: Свежий воздух, покой. Обратиться за медицинской помощью при плохом самочувствии.
P241: Использовать взрывобезопасное оборудование и освещение.	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.
P242: Использовать искробезопасные инструменты.	P332+P313: При раздражении кожи: обратиться за медицинской консультацией.
P243: Беречь от статического электричества.	P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией.
P261: Избегать вдыхания паров.	P363: Перед повторным использованием выстирать загрязнённую одежду.
P264: Вымыть тщательно руки после работы.	P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения.
P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.	P403+P233: Хранить в хорошо вентилируемом месте в плотно закрытой упаковке.
P271: Использовать только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении.	P501: Утилизировать содержимое в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3.684-21.
P273: Избегать попадания в окружающую среду.	
P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства защиты глаз.	
P301+P330+P331: ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ: Прополоскать рот. Не вызывать рвоту!	
P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязнённую одежду. Промыть кожу водой или принять душ.	

Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека.

7 ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

Набор предназначен для экстракции РНК вирусов только из биологического материала, указанного в разделе 1. Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с:

- МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19»;
- МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»;
- требованиями, перечисленными в таблицах 8 и 9.

Таблица 8

Требования к взятию и предварительной обработке исследуемого материала**Взятие мазков из ротоглотки или носоглотки**

Взятие мазка провести с помощью сухого стерильного одноразового зонда-тампона в пробирку с транспортной средой, содержащей консервант и предназначенной для хранения и транспортирования данного вида биологического материала (например, «Транспортная среда для

хранения и транспортировки респираторных мазков» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или аналогичная, зарегистрированная в РФ в установленном порядке).

Взятие и предобработка мокроты

Взятие материала в количестве не менее 1 мл провести в стерильный одноразовый контейнер с широким горлом (диаметром не менее 30 мм) и завинчивающейся крышкой.

Предобработка:

Провести разжижение мокроты, используя реагент для предобработки мокроты с целью проведения экстракции нуклеиновых кислот (например, реагент «Муколизин» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) или реагент, соответствующий по составу требованиям п. 1.7 Приложения 2 МУ 1.3.2569-09).

Взятие и предобработка фекалий

Перенести образец фекалий в количестве от 1 до 3 г (от 1 до 3 мл), используя в зависимости от консистенции образца отдельный наконечник с фильтром или одноразовую лопатку, в стерильный одноразовый контейнер.

Предобработка:

При исследовании нативных фекалий без предшествующего замораживания готовят фекальную суспензию. При водянистой консистенции фекалий приготовление суспензии не требуется.

Предобработка фекалий водянистой консистенции, свежеприготовленной суспензии фекалий или суспензии, подвергавшейся замораживанию с глицерином, проводится методом экспресс-фильтрации.

Приготовление фекальной суспензии

В пробирку, содержащую 0,8 мл фосфатного буфера (или стерильного изотонического раствора натрия хлорида), отдельным наконечником с фильтром (или одноразовой лопаткой) внести 0,1 г (0,1 мл) фекалий и тщательно ресуспендировать на вортексе до образования гомогенной суспензии.

При невозможности исследования материала в течение суток и/или необходимости длительного хранения к приготовленной суспензии фекалий добавить глицерин в конечной концентрации от 15 % до 20 %. После тщательной гомогенизации с использованием вортекса и экспозиции с глицерином в течение 30–40 мин пробы заморозить.

Подготовка фекалий методом экспресс-фильтрации

Необходимо использовать два наконечника объёмом 1000 мкл: один с аэрозольным фильтром, другой – без него. В наконечник без аэрозольного фильтра вставить отрезанную рабочую часть одноразового ватного зонда (ватной палочки) и зафиксировать проталкиванием в суженную часть наконечника. Наконечником с аэрозольным фильтром забрать 1 мл фекальной суспензии, вставить его в подготовленный наконечник с ватным фильтром и пропустить суспензию через фильтр в новую одноразовую пробирку.

При затруднённой фильтрации рекомендуется уменьшить концентрацию фекальной суспензии. Допускается разведение супернатанта фосфатно-солевым буфером в соотношении 1:1 в случае получения невалидных результатов ПЦР-исследования из-за ингибирования реакции амплификации.

Таблица 9

Требования к условиям транспортирования и хранения исследуемого материала

Условия транспортирования	Условия хранения
	Мазки из носоглотки и ротоглотки
При температуре от 2 °С до 8 °С	<ul style="list-style-type: none">• При температуре от 2 °С до 8 °С не более 5 суток;• При температуре минус 70 °С более 5 суток. Допускается однократное замораживание материала. <p>Примечание – При невозможности обеспечить хранение при минус 70 °С допустимо хранить при минус 20 °С.</p>
	Мокрота
При температуре от 2 °С до 8 °С	<ul style="list-style-type: none">• При температуре от 2 °С до 8 °С не более 2 суток;• При температуре минус 70 °С более 2 суток. Допускается однократное замораживание материала.

Условия транспортирования	Условия хранения
	Примечание – При невозможности обеспечить хранение при минус 70 °С допустимо хранить при минус 20 °С
	Фекалии
При температуре от 2 °С до 8 °С	<ul style="list-style-type: none"> До предобработки при температуре от 2 °С до 8 °С не более 3 суток; После предобработки при температуре минус 20 °С в течение 1 недели или при температуре минус 70 °С длительно. Допускается однократное замораживание материала.

7.1 Потенциально интерферирующие вещества

Потенциально интерферирующие вещества (ингибиторы ОТ-ПЦР) и их максимальные концентрации в образце, для которых оценивалось их ингибирующее влияние на ОТ-ПЦР, перечислены в таблице 10.

Таблица 10

Потенциально интерферирующие вещества

Исследуемый материал	Интерферент	Активный компонент	Тип интерферента	Концентрация вещества в образце	Обоснование исследованной концентрации
Мазки из носоглотки и/или ротоглотки, мокрота	Раствор хлоргексидина	Хлоргексидин		0,25 %	
	Раствор Люголя с глицерином	Йод		0,1 %	
	Стоматофит®	Экстракт жидкий из смеси растительного сырья	Антисептическое средство для местного применения	1,5 %	10 % от рекомендованной дозы
	Мирамистин®	Бензилдиметил [3-(миристоиламино)пропил] аммоний хлорид моногидрат		0,001 %	
	Цельная кровь	-	Эндогенная субстанция	5 % v/v	Объем в образце в условиях «наихудшего случая»
	Муцин	Очищенный белок		5 % v/v	
Фекалии	Глицерин	-	Консервант при предобработке	20 %	Максимально возможный объем в образце
	Цельная кровь	-	Эндогенная субстанция	5 % v/v	Объем в образце в условиях «наихудшего случая»
	Рыбий жир	-	Непереваренные остатки пищи	5 % v/v	
	Крахмал	-		5 % v/v	

Наличие возможного ингибирующего эффекта оценивалось путём проведения процедуры экстракции РНК с использованием набора из модельных образцов биологического материала, в которые добавлялись потенциальные интерференты в концентрациях согласно таблице 10 и стандартный образец предприятия, содержащий РНК вируса SARS-CoV-2 в концентрации 500 копий/мл. Далее с

экстрагированными образцами проводили ОТ-ПЦР с детекцией в режиме «реального времени» с использованием набора реагентов «Amplitech SARS-CoV-2».

В результате испытаний подтверждено, что влияние исследованных потенциально интерферирующих веществ на эффективность экстракции РНК с использованием набора «РНК-100» отсутствует.

8 ПРОЦЕДУРА ЭКСТРАКЦИИ РНК

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР включён внутренний контроль (ВК), то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению этого набора. Если в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР включены какие-либо иные контроли, используемые со стадии экстракции (например, положительный контроль (ПК), отрицательный контроль (ОК)), необходимо подготовить данные образцы согласно инструкции по применению этого набора.

8.1 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 1 (автоматическая методика с использованием автоматической станции «Amplitech E1»)

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с руководством по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1».

ВНИМАНИЕ! Для внесения в ячейки картриджа исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого образца.

8.1.1 Подготовка реагентов

8.1.1.1 Подготовить используемые контрольные образцы (например, ВК, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

8.1.1.2 Перемешать реагенты в картридже для ресуспендирования магнетизированной силики (Реагент МЕ). Перемешивание производить до получения равномерной суспензии коричневого цвета без осадка в ячейках рядов В и F.

ВНИМАНИЕ! При перемешивании картридж держать фольгированной плёнкой вверх. Перемешивание осуществлять путём встряхивания картриджа в горизонтальной плоскости, чтобы избежать попадания содержимого ячеек на защитную плёнку.

ВНИМАНИЕ! В картридже с ранее вскрытыми и использованными для экстракции ячейками необходимо заклеить данные ячейки клейкой плёнкой, входящей в состав набора, разрезав её по нанесённым линиям.

8.1.1.3 Проколоть защитную фольгированную плёнку необходимого количества ячеек картриджа в рядах А и/или Е с использованием специализированного перфоратора (входит в комплект поставки станции «Amplitech E1») для последующего внесения исследуемых и контрольных (ВК, ПК, ОК) образцов.

ВНИМАНИЕ! Исследуемые образцы, ВК и контроли (ОК, ПК) должны быть внесены в ячейки картриджа не позднее чем через два часа после вскрытия ячеек.

8.1.2 Внесение образцов и запуск протокола в работу

8.1.2.1 Внести во вскрытые (проколотые) ячейки картриджа рядов A/E требуемый объём ВК.

Примечание – Требуемый объём ВК, если он включён в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР, см. в инструкции по применению этого набора.

8.1.2.2 Добавить в ячейки с уже внесённым ВК исследуемые⁷ и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Каждый образец должен быть внесён в отдельную ячейку картриджа.

ВНИМАНИЕ! Во избежание получения невалидных результатов, не допускается внесение в ячейки картриджа исследуемых образцов, содержащих сгустки, слизь, твёрдые частицы и другие примеси, способные закупорить одноразовые наконечники автоматической станции.

ВНИМАНИЕ! После внесения исследуемых, контрольных образцов и ВК процедура экстракции на автоматической станции должна быть запущена в течение 20 мин.

8.1.2.3 Разместить на рабочем столе автоматической станции согласно руководству по её применению: картридж с внесёнными исследуемыми образцами и контролями, необходимое количество одноразовых наконечников и пробирок, входящих в состав набора, а также используемые контейнеры для элюата.

8.1.2.4 Запустить выполнение протокола экстракции РНК согласно руководству по эксплуатации автоматической станции «Amplitech E1» с использованием штрих-кода для протокола, указанного в кратком руководстве по применению набора «РНК-100».

Примечание – Объём элюции указать в протоколе в соответствии с инструкцией по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

8.1.2.5 Надосадочная жидкость в контейнерах для элюата, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную РНК, которую можно использовать для постановки реакции ОТ или ОТ-ПЦР.

8.2 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 2 (автоматическая методика с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™)

ВНИМАНИЕ! Перед началом работы необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации процессора KingFisher™.

ВНИМАНИЕ! Для внесения в лунки планшета реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого реагента/образца.

8.2.1 Подготовка реагентов

8.2.1.1 Перемешать тщательно взбалтыванием Буферы В1, В2, В3.

8.2.1.2 Подготовить используемые контрольные образцы (например, ВК, ПК, ОК)

⁷ Для образцов мокроты и фекалий необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

8.2.1.3 Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с Реагентом М на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования).

8.2.1.4 Внести всё содержимое пробирки с Реагентом М и объём ВК⁸, необходимый для проведения исследования 96 образцов, в Буфер В1.

8.2.1.5 Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь допускается хранить не более месяца при температуре от 2 °С до 8 °С.

8.2.2 Подготовка глубоколоночных планшетов

Перед проведением автоматической экстракции с использованием процессора KingFisher™ необходимо разнести реагенты, входящие в состав данного набора, по глубоколоночным планшетам, совместимым с прибором. Для этого необходимо выполнить порядок действий, указанный ниже.

8.2.2.1 Промаркировать 6 глубоколоночных планшетов: В1, В2-1, В2-2, В3, Э, Гр.

8.2.2.2 В лунки планшета В1 внести по 500 мкл подготовленной смеси ВК, Реагента М и Буфера В1.

8.2.2.3 В лунки планшета В2-1 и В2-2 внести по 700 мкл Буфера В2.

8.2.2.4 В лунки планшета В3 внести по 800 мкл Буфера В3.

8.2.2.5 В лунки планшета Э внести по 70 мкл Буфера В3.

8.2.2.6 В планшет Гр поместить насадку на магнитную голову KingFisher™.

8.2.3 Загрузка протокола экстракции

Для проведения экстракции РНК с использованием процессора магнитных частиц KingFisher™ необходимо использовать протокол экстракции «RNA100-KF», расположенный по адресу: <http://www.amplitech.ru/resources/>. Загрузка протокола в программное обеспечение «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments»⁹ для работы с прибором KingFisher™ осуществляется согласно руководству по эксплуатации программного обеспечения.

8.2.4 Внесение образцов и запуск протокола в работу

8.2.4.1 Внести в ячейки подготовленного планшета В1 с реагентами исследуемые¹⁰ и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник.

8.2.4.2 Выбрать в программном обеспечении «Thermo Scientific™ BindIt™ Software for KingFisher™ instruments» загруженный протокол «RNA100-KF».

8.2.4.3 По запросу программного обеспечения прибора установить в него подготовленные планшеты В1, В2-1, В2-2, В3, Э, Гр. После установки планшетов запустить процедуру экстракции РНК.

⁸ Если ВК включён в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

⁹ Программное обеспечение поставляется с процессором магнитных частиц KingFisher™.

¹⁰ Для образцов мокроты и фекалий необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

8.2.4.4 Надосадочная жидкость в планшете Э, полученная в результате автоматической экстракции, содержит очищенную РНК, которую можно использовать для постановки реакции ОТ или ОТ-ПЦР.

8.3 Экстракция РНК при использовании формы выпуска 2 (ручная методика с использованием центрифугирования)

ВНИМАНИЕ! Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтром для каждого реагента/образца.

8.3.1 Подготовка реагентов

8.3.1.6 Перемешать тщательно взбалтыванием Буферы В1, В2, В3.

8.3.1.7 Подготовить используемые контрольные образцы (например, ВК, ПК, ОК) согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

8.3.1.8 Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с Реагентом М на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования).

8.3.1.9 Приготовить смесь Реагента М и ВК, если он включён в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР, согласно таблице 11. Вариант подготовки смеси реагентов зависит от количества исследуемых и контрольных образцов, из которых проводится экстракция РНК.

Таблица 11

Вариант подготовки смеси реагентов

Количество образцов	Подготовка смеси реагентов
96	Внести всё содержимое пробирки с Реагентом М и объём ВК, необходимый для проведения исследования 96 образцов, в Буфер В1. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием, хранить не более месяца при температуре от 2 °С до 8 °С.
< 96	Внести в отдельную пробирку реагенты в объёмах из расчёта на один образец: 10 мкл Реагента М и требуемый объём ВК согласно инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР. Смесь готовить на общее число исследуемых образцов и контролей, также учитывая запас – на один образец больше. Перемешать смесь на вортексе.

8.3.2 Проведение экстракции

ВНИМАНИЕ! При проведении экстракции РНК из образцов мазков из носоглотки и ротоглотки допускается использование сокращённой процедуры экстракции с исключением пункта 8.3.2.11.

8.3.2.1 Промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок объёмом 1,5 мл для исследуемых и контрольных (например, ПК, ОК) образцов.

8.3.2.2 Внести в каждую промаркированную пробирку:

- по 520 мкл подготовленной смеси ВК, Реагента М и Буфера В1, или
- по 20 мкл подготовленной смеси ВК, Реагента М и по 500 мкл Буфера В1.

Примечание – Указаны объёмы смесей реагентов при добавлении 10 мкл ВК на один образец.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объём смеси реагентов, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВК не используется, либо одновременно используется несколько различных ВК, либо добавляемый объём ВК отличается от 10 мкл.

8.3.2.3 Внести в промаркированные пробирки исследуемые¹¹ и контрольные образцы в объёме 100 мкл, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.4 Поместить пробирки в термостат с температурой 70 °С на 10 мин.

8.3.2.5 Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.6 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.7 По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра для каждого образца.

8.3.2.8 Добавить в пробирки по 700 мкл Буфера В2. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.9 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.10 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.7.

8.3.2.11 Повторить отмывку Буфером В2 (пп. 8.3.2.8-8.3.2.10).

8.3.2.12 Добавить в пробирки по 800 мкл Буфера В3.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера В3 содержимое пробирок **не перемешивать**.

8.3.2.13 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.14 Удалить надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.7.

8.3.2.15 Добавить в пробирки по 70 мкл Буфера В3. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.16 Поместить пробирки в термостат с температурой 80 °С на 5 мин, перемешивая каждые 2 мин.

8.3.2.17 Центрифугировать в течение 1 мин при 10000 x g.

8.3.2.18 Надосадочную жидкость, содержащую очищенную РНК, можно использовать для постановки реакции ОТ или ОТ-ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение препарата РНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования препарат не был внесён в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

8.4 Хранение очищенной РНК

Для хранения РНК необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку. Рекомендуется хранить очищенную РНК:

- при температуре от 2 °С до 8 °С не более 4 ч,
- при температуре от минус 24 °С до минус 16 °С не более недели,
- при температуре не выше минус 68 °С не более года.

¹¹ Для образцов мокроты и фекалий необходимо провести предобработку согласно разделу 7.

9 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

9.1 Контроли, используемые на этапе экстракции РНК

Контроль этапа экстракции РНК осуществляется одновременно с оценкой достоверности результатов этапа ОТ-ПЦР согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения ОТ-ПЦР. Результаты исследования контролей, проходящих экстракцию РНК вместе с исследуемыми образцами, должны соответствовать критериям оценки, указанным в инструкции по применению набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

9.1.1 Отрицательный и положительный контроли

Каждая группа экстрагируемых образцов должна включать контрольные образцы, если они предусмотрены для проведения исследования согласно инструкции к используемому набору реагентов для проведения ОТ-ПЦР:

- ОК для выявления контаминации в процессе проведения исследования;
- ПК для контроля корректного прохождения исследования.

9.1.2 Внутренний контроль

Для контроля качества экстракции РНК и оценки влияния ингибиторов на результаты ОТ-ПЦР в исследовании может использоваться экзогенный ВК¹², который добавляется на этапе экстракции в каждый исследуемый и контрольный образец. Отсутствие результатов амплификации для ВК и одновременно для выявляемой мишени свидетельствует о возможном присутствии ингибиторов ОТ-ПЦР в образце.

9.2 Мониторинг лаборатории на наличие контаминации

Для выявления возможной контаминации лаборатории продуктами амплификации, исследуемыми и контрольными образцами рекомендуется раз в месяц исследовать смывы с рабочих поверхностей лабораторной мебели, оборудования и поверхностей помещений согласно процедуре, указанной в МУ 1.3.2569-09. При обнаружении контаминации необходимо провести мероприятия по её устранению согласно указаниям, описанным в МУ 1.3.2569-09.

10 ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

Эффективность экстракции РНК для всех заявленных видов биологического материала составляет 100 % (97,8 % – 100 % с достоверностью 95 %) ¹³. Указанное значение характеристики достигается при соблюдении требований, приведённых в разделе 7.

Набор обеспечивает экстракцию РНК с чистотой, достаточной для последующего проведения ОТ-ПЦР с детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени».

¹² ВК, входящий в состав набора реагентов для проведения ОТ-ПЦР.

¹³ На примере экстракции РНК SARS-CoV-2 в концентрации 500 копий/мл из биоматериала, предобработанного или помещённого в транспортную среду в зависимости от вида биоматериала.

11 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

11.1 Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления.

После вскрытия реагенты в пробирках и флаконах использовать до истечения срока годности набора. После вскрытия ячеек картриджа с реагентами экстракция с использованием вскрытых ячеек должна быть проведена в течение 140 мин (с учётом времени, затрачиваемого на внесение в ячейки исследуемых образцов и контролей).

11.2 Хранение

Набор хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в защищённом от солнечного света месте. Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия.

11.3 Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 °С до 25 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

11.4 Эксплуатация

Реагенты, входящие в состав набора, готовы к использованию.

Ячейки картриджа с реагентами предназначены для однократного использования.

Экстракция РНК с использованием набора должна проводиться при температуре от 18 °С до 25 °С и относительной влажности воздуха от 25 % до 75 %.

12 ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применены следующие сокращения:

ВК	–	внутренний контроль
ДНКза	–	дезоксирибонуклеаза
ОК	–	отрицательный контроль
ОТ	–	обратная транскрипция
ПК	–	положительный контроль
ПЦР	–	полимеразная цепная реакция
РНК	–	рибонуклеиновая кислота
РНКза	–	рибонуклеаза

13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ Р 51088-2013 Медицинские изделия для диагностики ин витро. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации

ГОСТ ISO 14971-2011 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ Р 15.013-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Медицинские изделия

ГОСТ Р 15.301-2016 Система разработки и постановки продукции на производство. Продукция производственно-технического назначения. Порядок разработки и постановки продукции на производство

ГОСТ 15.309-98 Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приёмка выпускаемой продукции. Основные положения

ГОСТ Р 51352-2013 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения

ГОСТ Р ИСО 23640-2015 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2020 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования

Примечание - При использовании данного документа целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящей инструкции следует пользоваться заменённым (изменённым) ссылочным документом.

14 ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

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

Рекламации на качество набора направлять в адрес производителя ООО «Амплитек»: 109235, Москва, ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42, тел. (495) 374-13-46, e-mail: support@amplitech.ru.

15 ТЕХНИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Консультацию по вопросам по работе с набором и его качеству можно получить по контактам, указанным на официальном сайте производителя: www.amplitech.ru.

16 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

	Изготовитель		Код серии
	Дата изготовления		Использовать до
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Не допускать попадания солнечного света
	Обратитесь к инструкции по применению		Предел температуры
	Содержимого достаточно для проведения n тестов		Осторожно!
	Номер по каталогу		Знаки опасности



ООО «Амплитек»,
Россия, 109235, Москва,
ул. 1-я Курьяновская, д. 34, стр. 8, этаж 1 пом. II ком. 42
тел. (495) 374-13-46, www.amplitech.ru

Информация получена с официального сайта

Федеральной службы по надзору в сфере

www.roszdravnadzor.gov.ru

и пронумеровано, скреплено и прошито

22 (двадцать два)

лист (а/ов)

Генеральный директор Общества с
ограниченной ответственностью
«Амплик»

А.В. Ходяков

