



## **ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ**

Набор реагентов для выделения ДНК/РНК вирусов из крови

### **ПРОБА-МЧ-ЛАЙТ**

Регистрационное удостоверение  
№ РЗН 2025/25329 от 29 апреля 2025 года

**ВНИМАНИЕ!** Изучите инструкцию перед началом работы

## СОДЕРЖАНИЕ

1	ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ.....	5
2	ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ .....	6
2.1	Состав набора реагентов.....	6
2.2	Количество анализируемых образцов.....	8
2.3	Принцип метода .....	9
3	АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ.....	10
3.1	Минимальный объём биоматериала .....	10
3.2	Функциональные характеристики набора реагентов .....	10
3.3	Интерферирующие вещества .....	10
3.4	Эффективность набора реагентов .....	10
3.5	Медицинские изделия, для которых предназначен набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот.....	11
4	МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.....	12
5	ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ.....	14
6	АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.....	16
6.1	Материал для исследования .....	16
6.2	Общие требования .....	16
6.3	Взятие образцов периферической крови .....	16
6.4	Транспортирование и хранение образцов биологического материала.....	17
6.5	Получение плазмы/сыворотки крови .....	17
7	ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ .....	18
7.1	Подготовка образцов плазмы/сыворотки к выделению НК.....	19
7.2	Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот	19
7.3	Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке N и магнитного штатива.....	20
7.4	Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке N и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах .....	23
7.5	Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке A, дозирующего устройства ДТстрим и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.....	26
7.6	Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке A, дозирующей станции Freedom EVO® (TECAN) и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах	28
7.7	Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке P и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах .....	30

7.8	Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке Р, дозирующего устройства ДТСтрим и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах.....	32
7.9	Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке Р, дозирующей станции Freedom EVO® (TECAN) и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах	34
7.10	Хранение и использование препарата НК .....	36
8	ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ.....	38
9	УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ .....	39
10	ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ .....	39
11	РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ .....	39
12	СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ.....	40
13	ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ.....	40
14	АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ .....	42

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящей инструкции используются следующие сокращения и обозначения:

DWP	- от англ. deep well plate, глубоколоночный планшет
HBV	- от англ. Hepatitis B virus
HCV	- от англ. Hepatitis C virus
RCF	- от англ. relative centrifugal force, относительное ускорение центрифуги
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКазы	- дезоксирибонуклеазы
ДНК-ВК	- внутренний контрольный образец (ДНК-ВК)
К-	- отрицательный контрольный образец
ЛКО	- лабораторный контрольный образец (применяется для оценки чувствительности набора реагентов)
НК	- нуклеиновые кислоты (РНК и ДНК)
ОТ	- обратная транскрипция
ОТ-ПЦР	- обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РНКазы	- рибонуклеазы
РНК-ВК	- внутренний контрольный образец (РНК-ВК)
ЭДТА	- этилендиаминтетраацетат

## **1 ПРЕДНАЗНАЧЕННОЕ ПРИМЕНЕНИЕ**

**1.1** Полное наименование набора реагентов: Набор реагентов для выделения ДНК/РНК вирусов из крови (ПРОБА-МЧ-ЛАЙТ), далее по тексту набор реагентов.

**1.2** Назначение: набор реагентов предназначен для выделения ДНК/РНК вирусов из плазмы крови, сыворотки крови для последующего анализа методом ПЦР/ОТ-ПЦР в режиме реального времени.

**1.3** Функциональное назначение: вспомогательное средство для диагностики *in vitro*.

**1.4** Популяционные и демографические аспекты: применение набора реагентов не зависит от популяционных и демографических аспектов.

Противопоказаний к применению нет.

**1.5** Область применения: набор реагентов может быть использован в клиничко-диагностических лабораториях медицинских учреждений.

**1.6** Потенциальные пользователи: квалифицированный персонал, осуществляющий взятие и предобработку клинического материала, а также специалисты, обученные методам молекулярной диагностики и правилам работы в клиничко-диагностической лаборатории в установленном порядке: врач клиничко-диагностической лаборатории, фельдшер-лаборант (медицинский лабораторный техник).

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

## 2 ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов ПРОБА-МЧ-ЛАЙТ выпускается в следующих вариантах исполнения фасовки и комплектации: фасовка А, фасовка N, фасовка Р (Комплектация № 1, Комплектация № 2).

### 2.1 Состав набора реагентов

<b>REF P-136-A/9, фасовка А</b>					
<b>Наименование компонента</b>		<b>Внешний вид</b>	<b>Номер ряда в картридже</b>	<b>Количество ячеек/пробирок</b>	<b>Номинальный объём компонента</b>
Картридж с реагентами № 1 <sup>1</sup>	Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	1 <sup>2</sup>	2 ячейки	по 6,6 мл
	Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	2	2 ячейки	по 6,6 мл
	Промывочный раствор №1	Прозрачная зелёная жидкость	3	2 ячейки	по 4,2 мл
	Промывочный раствор №1	Прозрачная зелёная жидкость	4	2 ячейки	по 4,2 мл
	Элюирующий раствор	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	5	2 ячейки	по 2,7 мл
	Промывочный раствор №2	Прозрачная жёлтая жидкость	6	2 ячейки	по 5,9 мл
Картридж с реагентами № 2 <sup>1</sup>	Промывочный раствор №2	Прозрачная жёлтая жидкость	1 <sup>2</sup>	2 ячейки	по 5,9 мл
	Промывочный раствор №2	Прозрачная жёлтая жидкость	2	2 ячейки	по 5,9 мл
	Промывочный раствор №2	Прозрачная жёлтая жидкость	3	2 ячейки	по 3,0 мл
	Промывочный раствор №2	Прозрачная жёлтая жидкость	4	2 ячейки	по 3,0 мл
	Промывочный раствор №2	Прозрачная жёлтая жидкость	5	2 ячейки	по 5,9 мл
	Промывочный раствор №2	Прозрачная жёлтая жидкость	6	2 ячейки	по 5,9 мл
Протеиназа К		Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	2 пробирки		по 720 мкл
Сорбент		Жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	4 пробирки		по 480 мкл
Разбавитель для контрольных материалов		Прозрачная голубая жидкость	8 пробирок		по 500 мкл

<sup>1</sup> – набор реагентов включает 2 картриджа с реагентами № 1 и 2 картриджа с реагентами № 2

<sup>2</sup> – ряд № 1 картриджа с реагентами имеет боковой скос

<b>REF P-136-N/9, фасовка N</b>			
Наименование компонента	Внешний вид	Количество флаконов/пробирок	Номинальный объём компонента
Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	1 флакон	53 мл
Протеиназа К	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	2 пробирки	по 720 мкл
Сорбент	Жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	4 пробирки	по 480 мкл
Разбавитель для контрольных материалов	Прозрачная голубая жидкость	1 флакон	12 мл
Промывочный раствор №1	Прозрачная зелёная жидкость	1 флакон	34 мл
Промывочный раствор №2	Прозрачная жёлтая жидкость	2 флакона	по 75 мл
Элюирующий раствор	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	1 флакон	11 мл

<b>REF P-136-P/9, фасовка P, комплектация № 1</b>				
Наименование компонента	Внешний вид	Номер ряда в картридже	Количество ячеек/планшетов/пробирок	Номинальный объём компонента
Картридж с реагентами	Лизирующий раствор	1 <sup>1</sup>	2 ячейки	по 6,6 мл
	Лизирующий раствор	2	2 ячейки	по 6,6 мл
	-	3	-	-
	-	4	-	-
	Лизирующий раствор	5	2 ячейки	по 6,6 мл
	Лизирующий раствор	6	2 ячейки	по 6,6 мл
Промывочный раствор №1	Прозрачная зелёная жидкость	1 планшет		96 лунок по 350 мкл
Промывочный раствор №2	Прозрачная жёлтая жидкость	2 планшета		по 96 лунок по 730 мкл
Элюирующий раствор	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	1 планшет		96 лунок по 110 мкл
Протеиназа К	Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	2 пробирки		по 720 мкл
Сорбент	Жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	4 пробирки		по 480 мкл
Разбавитель для контрольных материалов	Прозрачная голубая жидкость	4 пробирки		по 500 мкл

<sup>1</sup> – ряд № 1 картриджа с реагентами имеет боковой скос

REF Р-137-Р/9, фасовка Р, комплектация № 2					
Наименование компонента		Внешний вид	Номер ряда в картридже	Количество ячеек/планшетов/пробирок	Номинальный объём компонента
Картридж с реагентами	Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	1 <sup>1</sup>	2 ячейки	по 6,6 мл
	Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	2	2 ячейки	по 6,6 мл
	-	-	3	-	-
	-	-	4	-	-
	Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	5	2 ячейки	по 6,6 мл
	Лизирующий раствор	Прозрачная бесцветная пенящаяся жидкость	6	2 ячейки	по 6,6 мл
Промывочный раствор №1		Прозрачная зелёная жидкость	1 планшет	96 лунок по 350 мкл	
Промывочный раствор №2		Прозрачная жёлтая жидкость	2 планшета	по 96 лунок по 730 мкл	
Элюирующий раствор		Прозрачная бесцветная или розовая жидкость	1 планшет	96 лунок по 110 мкл	
Протеиназа К		Прозрачная бесцветная вязкая жидкость	2 пробирки	по 720 мкл	
Сорбент		Жидкость с осадком, образующим взвесь коричневого цвета при встряхивании	4 пробирки	по 480 мкл	
Разбавитель для контрольных материалов		Прозрачная голубая жидкость	4 пробирки	по 500 мкл	
Насадка на магнитные стержни 96			1 шт		
Планшет глубоколуночный 96 лунок			2 шт		
Плётка для заклеивания планшета			1 шт		

Все компоненты набора реагентов готовы к применению и не требуют дополнительной подготовки к работе.

Комплектность:

- Набор реагентов в одном из вариантов исполнения – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 экз.
- Паспорт – 1 экз.

## 2.2 Количество анализируемых образцов

Набор реагентов в фасовке А рассчитан на выделение НК из 96 анализируемых образцов (одна постановка на 96 образцов или две постановки по 48 образцов), включая калибровочные образцы и отрицательные контрольные образцы. В случае подготовки образцов для количественного исследования возможно выделение НК из 88 неизвестных образцов (40 неизвестных образцов в случае выполнения двух независимых процедур выделения). В случае подготовки образцов для качественного исследования возможно выделение НК из 94 неизвестных образцов (46 неизвестных образцов в случае выполнения двух независимых процедур выделения).

<sup>1</sup> – ряд № 1 картриджа с реагентами имеет боковой скос

Набор реагентов в фасовке N при проведении выделения в пробирках 1,5–2,0 мл рассчитан на выделение НК из 96 анализируемых образцов, включая калибровочные образцы и отрицательные контрольные образцы. В случае подготовки образцов для количественного исследования производитель гарантирует достаточность реагентов для 6 независимых процедур выделения по 9 неизвестных образцов. В случае подготовки образцов для качественного исследования производитель гарантирует достаточность реагентов для 6 независимых процедур выделения по 15 неизвестных образцов.

Набор реагентов в фасовке N при проведении выделения в глубоколоночных планшетах рассчитан на выделение НК из 96 анализируемых образцов (одна постановка на 96 образцов), включая калибровочные образцы и отрицательный контрольный образец. В случае подготовки образцов для количественного исследования возможно выделение НК из 88 неизвестных образцов. В случае подготовки образцов для качественного исследования возможно выделение НК из 94 неизвестных образцов.

Набор реагентов в фасовке P рассчитан на выделение НК из 96 анализируемых образцов (одна постановка на 96 образцов), включая калибровочные образцы и отрицательный контрольный образец. В случае подготовки образцов для количественного исследования возможно выделение НК из 88 неизвестных образцов. В случае подготовки образцов для качественного исследования возможно выделение НК из 94 неизвестных образцов.

**2.3** Принцип метода основан на проведении лизиса и высвобождении нуклеиновых кислот под действием смеси хаотропных агентов, детергентов и протеиназы K, с последующей сорбцией на парамагнитных наночастицах, промывкой от примесей и элюцией буфером.

### 3 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

**3.1** Минимальный объём биоматериала (плазма крови, сыворотка крови), из которого могут быть выделены нуклеиновые кислоты: 100 мкл.

Рекомендуемый объём биоматериала для повышения чувствительности исследования: 250 мкл.

**3.2** Функциональные характеристики набора реагентов:

Концентрация нуклеиновых кислот в элюате объёмом 100 мкл находится в интервале 0,06 – 0,30 нг/мкл. Необходимо учитывать, что набор реагентов предназначен для выделения нуклеиновых кислот из плазмы/сыворотки, свободной от клеток крови, с целью выявления РНК/ДНК вирусов.

**ВНИМАНИЕ!** Элюат содержит неионный детергент, поглощающий в ультрафиолетовой области спектра ( $\lambda_{\max} = 275 \pm 5$  нм) и препятствующий количественному определению примеси белка.

**3.3** Интерферирующие вещества

Наличие ингибиторов ПЦР в образце биологического материала может быть причиной сомнительных (неопределённых/недостоверных) результатов. Признаком ингибирования ПЦР является одновременное отсутствие амплификации внутреннего контроля и специфического продукта.

Максимальные концентрации интерферирующих веществ, при которых не наблюдалось влияние на проведение обратной транскрипции и амплификации лабораторного контрольного образца и внутреннего контрольного образца составили: триглицеридов до 40 ммоль/л образца плазмы/сыворотки, гемоглобина – до 2,0 г/л, билирубина – до 340 мкмоль/л, общий белок – 80 г/л, цельной крови – 10% v/v.

Концентрации экзогенных веществ в образцах биоматериала (плазма/сыворотка крови), не оказывающие интерферирующего влияния на исследование методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции: пег-интерферон альфа, ацикловир, атазанавир, рибавирин, рифампицин, изониазид, азитромицин – составляют не более трёхкратных максимальных терапевтических концентраций.

**3.4** Эффективность набора реагентов

Эффективность набора реагентов установлена в ходе проведения клинических испытаний с использованием дополнительных наборов реагентов для амплификации при исследовании образцов биологического материала:

Биоматериал	Количество исследованных образцов, шт.	Аналит	Эффективность набора реагентов ПРОБА-МЧ-ЛАЙТ
Плазма крови	50	вирус гепатита В	100 % ( $P_{\text{ист}} = 95,50$ )
	50	вирус гепатита С	100 % ( $P_{\text{ист}} = 95,50$ )
Сыворотка крови	50	вирус гепатита В	100 % ( $P_{\text{ист}} = 95,50$ )
	50	вирус гепатита С	100 % ( $P_{\text{ист}} = 95,50$ )

**3.5** Медицинские изделия, для которых предназначен набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот:

Набор реагентов для выделения ДНК/РНК ПРОБА-МЧ-ЛАЙТ может быть использован совместно с наборами реагентов, предназначенными для анализа нуклеиновых кислот методом ПЦР/ОТ-ПЦР.

Набор реагентов для выделения ДНК/РНК ПРОБА-МЧ-ЛАЙТ валидирован со следующими наборами реагентов, предназначенными для анализа нуклеиновых кислот методом ПЦР/ОТ-ПЦР:

- Набор реагентов для количественного определения РНК вируса гепатита С (HCV) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (HCV Количественный), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/17614;
- Набор реагентов для выявления РНК вируса гепатита С (HCV) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (HCV), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия, РУ № РЗН 2022/18157;
- Набор реагентов для количественного определения ДНК вируса гепатита В (HBV) методом ПЦР в режиме реального времени (HBV Количественный), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия;
- Набор реагентов для выявления ДНК вируса гепатита В (HBV) методом ПЦР в режиме реального времени (HBV), ООО «ДНК-Технология ТС», Россия.

#### 4 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Организация работы ПЦР-лаборатории, оборудование и материалы должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15190-2023, методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», с соблюдением санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Неизвестные образцы рассматриваются как потенциально-опасные. При работе с набором реагентов следует надевать одноразовые перчатки без талька.

При работе с микроорганизмами I–IV групп патогенности выбор типа защитного костюма (рабочей одежды и средств индивидуальной защиты) проводится в строгом соответствии с СанПиН 3.3686-21 и определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением её боксами биологической безопасности.

Следует использовать только одноразовые наконечники и пробирки.

Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов биологического материала.

К работе с набором реагентов допускается персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинично-диагностической лаборатории.

Каждый этап анализа должен проводиться в самостоятельных рабочих зонах (помещениях). Выделение НК следует проводить в боксах биологической безопасности II класса с включенным ламинарным потоком.

Запрещается перемещение лабораторного оборудования, в том числе дозаторов, штативов, лабораторной посуды, халатов, головных уборов и пр., а также растворов реагентов из одного помещения в другое.

Дозаторы, используемые при работе с набором реагентов, должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Поверхности рабочих столов, а также помещения, в которых проводится выделение НК, следует обязательно, до и после проведения работ, облучать с помощью бактерицидных установок в течение 30 минут.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники и др.) должны сбрасываться в контейнер для медицинских отходов, содержащий дезинфицирующий раствор.

Все поверхности в лаборатории (рабочие столы, штативы, оборудование и др.) ежедневно подвергают влажной уборке с применением дезинфицирующих/моющих средств, регламентированных правилами и нормами СанПиН 3.3686-21.

При использовании набора реагентов в клинично-диагностической лаборатории образуются отходы класса B, которые утилизируются 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».

## Опасные компоненты в наборе реагентов

Компонент набора реагентов	Наличие/отсутствие опасного компонента	Указание на риски
Лизирующий раствор	<b>Гуанидина гидрохлорид</b>	H302, H312, H332, H412
	<b>Трис (2-карбоксиил) фосфин гидрохлорид</b>	H302, H312, H315, H319, H332
	<b>Тритон X-100</b>	H302, H313, H318, H411
	<b>Изопропанол</b>	H225, H319, H336
Промывочный раствор №1	<b>Гуанидина гидрохлорид</b>	H302, H312, H332, H412
	<b>Трис (2-карбоксиил) фосфин гидрохлорид</b>	H302, H312, H315, H319, H332
	<b>Тритон X-100</b>	H302, H313, H318, H411
	<b>Изопропанол</b>	H225, H319, H336
Промывочный раствор №2	<b>Азид натрия менее 0,1%</b>	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Элюирующий раствор	<b>Азид натрия менее 0,1%</b>	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Сорбент	<b>Азид натрия менее 0,1%</b>	Не классифицируется как опасный для здоровья человека и окружающей среды
Разбавитель для контрольных материалов	<b>Гуанидина гидрохлорид</b>	H302, H312, H332, H412
Протеиназа К	Нет опасных веществ	-
H225 – Легковоспламеняющиеся жидкость и пары; H302 – Вредно при проглатывании; H312 – Вредно при контакте с кожей; H313 – Острая токсичность (кожная); H315 – Вызывает раздражение кожи; H318 – Вызывает серьезные повреждения глаз; H319 – Вызывает раздражение глаз; H332 – Вредно при вдыхании;; H336 – Может вызывать сонливость и головокружение; H411 – Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями; H412 – Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.		

При работе с набором реагентов использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека. После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистыми оболочками. При аварийных ситуациях возможно следующее: раздражение кожи и слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц, аллергическая реакция. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности контакт с организмом человека исключён.

Не использовать набор реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов, указанного в паспорте к набору реагентов;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов набора реагентов;
- по истечению срока годности набора реагентов.

Примечание – Набор реагентов **не содержит** веществ в концентрациях, обладающих канцерогенным, мутагенным действием, а также влияющих на репродуктивную функцию человека. При использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

## 5 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

При работе с набором реагентов требуются следующие оборудование и материалы:

Оборудование и материалы	Вариант исполнения и вариант использования			
	Фасовка А	Фасовка N, выделение в пробирках 1,5 мл	Фасовка N, выделение в глубоколоночных планшетах	Фасовка Р
бокс биологической безопасности II класса	да	да	да	да
центрифуга для пробирок типа Vacuette с RCF(g) не ниже 1600	да	да	да	да
термостат твердотельный, поддерживающий температуру до 65 °С	да	да	да	да
Устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в вариантах исполнения ДТстрим12 L4 или ДТстрим 15 L4 <sup>1</sup> , ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982, далее по тексту – ДТстрим или Анализатор автоматический модульный Freedom EVO с принадлежностями, исполнение Freedom EVO Clinical, ТЕКАН Швайц АГ, Швейцария, РУ № ФСЗ 2008/03047, далее по тексту – дозирующая станция Freedom EVO	да <sup>2</sup>	нет	нет	да <sup>2</sup>
центрифуга с ротором для глубоколоночных планшетов, например, LMC-12, Biosan	да	нет	нет	да
Процессор магнитных частиц для очистки нуклеиновых кислот, клеток и белков KingFisher, вариант исполнения KingFisher Flex 96 (Термо Фишер Сайентифик Ой, Финляндия, РУ № ФСЗ 2009/05562) или Система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure для диагностики <i>in vitro</i> , вариант исполнения Система для автоматического выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure 96 для диагностики <i>in vitro</i> (ООО "Ханчжоуская компания инструментов Аошэн", Китай, РУ № РЗН 2022/16430))	да	нет	да	да
холодильник с морозильной камерой	да	да	да	да
микроцентрифуга-вортекс	да	да	да	да
дозаторы механические или электронные переменного объёма одноканальные, позволяющие отбирать объёмы жидкости от 20 до 200 мкл, от 200 до 1000 мкл	да	да	да	да
одноразовые наконечники для полуавтоматических дозаторов, свободные от ДНКаз и РНКаз, объёмом 200 мкл, 1000 мкл	да	да	да	да
штатив для дозаторов	да	да	да	да
одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные	да	да	да	да
пробирки микроцентрифужные объёмом 1,5–2,0 мл, свободные от РНКаз и ДНКаз (рекомендуются SSI-1260)	нет	да	нет	нет
штатив «рабочее место» для пробирок объёмом 1,5 мл	нет	да	нет	нет
физиологический раствор (0,9% NaCl) стерильный для подготовки отрицательного контрольного образца (при необходимости)	да	да	да	да

Оборудование и материалы	Вариант исполнения и вариант использования			
	Фасовка А	Фасовка N, выделение в пробирках 1,5 мл	Фасовка N, выделение в глубоколоночных планшетах	Фасовка Р
ёмкость для сброса использованных наконечников и других расходных материалов	да	да	да	да
ёмкость для сброса использованных наконечников устройства дозирующего ДТстрим	да <sup>2</sup>	нет	нет	да <sup>2</sup>
воронка сменная для отработанных материалов для устройства дозирующего ДТстрим (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)	да <sup>2</sup>	нет	нет	да <sup>2</sup>
одноразовые наконечники с фильтром для устройства дозирующего ДТстрим, свободные от РНКаЗ и ДНКаЗ, объёмом 1000 мкл или рекомендованные для аналогичного используемого дозирующего устройства	да <sup>2</sup>	нет	нет	да <sup>2</sup>
планшет глубоколоночный 96 лунок	да	нет	да	да
адгезивная плёнка для заклеивания планшета	да	нет	да	да
насадка на магнитные стержни 96	да	нет	да	да <sup>3</sup>
дезинфицирующий раствор	да	да	да	да
электрический лабораторный аспиратор с колбой-«ловушкой»	нет	да	нет	нет
одноразовые наконечники без фильтра, свободные от РНКаЗ и ДНКаЗ, для электрического лабораторного аспиратора	нет	да	нет	нет
магнитный штатив	нет	да	нет	нет
степпер механический 1,0–10 мкл, например Eppendorf Multipette M4; шприцы-наконечники для степпера объёмом 5,0 мл и 1,0 мл, например Combitips Advanced или дозатор механический восьмиканальный переменного объёма 100–1000 мкл, например Biohit Proline	нет	нет	да	да <sup>4</sup>
<b>Дополнительно для получения и подготовки плазмы/сыворотки крови:</b>				
вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 4,0 мл с солью ЭДТА или цитратом натрия	да	да	да	да
центрифуга для пробирок типа Vacuette с RCF(g) не ниже 800	да	да	да	да
Устройство дозирующее ДТстрим по ТУ 9443-005-96301278-2012 в варианте исполнения ДТстрим 12L1 или 15L1 <sup>5</sup> , ООО «НПО ДНК-Технология», Россия, РУ № РЗН 2015/2982	да	нет	нет	да
<b>Примечания к таблице:</b>				
<sup>1</sup> – при первом запуске дозирующего устройства и при смене типа пробирок 1,5 мл необходима калибровка при участии сервисного инженера				
<sup>2</sup> – при автоматизированном внесении анализируемых образцов с использованием дозирующего устройства ДТстрим				
<sup>3</sup> – кроме варианта исполнения фасовка Р, комплектация № 2 (номер по каталогу Р-137-Р/9)				
<sup>4</sup> – для ручной подготовки глубоколоночных планшетов				
<sup>5</sup> – опционально				

## 6 АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

### 6.1 Материал для исследования

Для исследования используют плазму крови и сыворотку крови, полученные из цельной периферической крови человека.

Примечание – При использовании набора реагентов совместно с Набором реагентов для количественного определения РНК вируса гепатита С (HCV) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (HCV Количественный) и Набором реагентов для выявления РНК вируса гепатита С (HCV) методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (HCV) производства ООО «ДНК-Технология ТС» рекомендуется использовать для исследования **плазму крови**.

### 6.2 Общие требования

6.2.1 Для получения корректных результатов большое значение имеет качество взятия образца биоматериала для исследования, его хранение, транспортирование и предварительная обработка. Неправильное взятие биоматериала может привести к получению недостоверных результатов и, вследствие этого, необходимости его повторного взятия.

6.2.2 На этапе подготовки биоматериала используйте одноразовые наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз.

6.2.3 Для предотвращения контаминации открывайте крышку только той пробирки, в которую будете вносить биологический материал, и закрывайте её после этого. Не допускается работать одновременно с несколькими пробирками с открытыми крышками.

### 6.3 Взятие образцов периферической крови

**ВНИМАНИЕ!** Перед выделением НК требуется подготовка образцов периферической крови (6.5).

**Ограничение метода:** внутривенные инъекции гепарина, инфузии препаратов для парентерального питания менее чем за 6 часов до исследования.

Взятие цельной периферической крови проводится в вакуумные пластиковые пробирки типа Vacuette объёмом 4,0 мл, например, "VACUETTE" с К2 ЭДТА 4 мл, 13x75 мм, для гематологии, "PREMIUM" (арт 454023) производства «Грейнер Био-Уан Гмбх» с добавленной в качестве антикоагулянта солью этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2,0 мг/мл

В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия (если это не противоречит требованиям к ПЦР/ОТ-ПЦР-набору реагентов, применяемому совместно с набором реагентов во всех вариантах исполнения), например, "VACUETTE" с натрия цитратом 3,8%, с двойными стенками, для гемостаза, "PREMIUM" 3,5 мл, 13x75 мм (арт 454387).

Для перемешивания крови с антикоагулянтом после взятия материала необходимо перевернуть пробирку 2–3 раза.

**ВНИМАНИЕ!** Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

Допускается использование пробирок с активатором образования сгустка и разделительным гелем, например, "VACUETTE", для сыворотки, с гелем, "PREMIUM", 5 мл, 13x100 мм, (арт 456010).

При взятии материала следует заполнять пробирку до метки наполнения. Это гарантирует правильное соотношение кровь/антикоагулянт (или активатор образования сгустка) в пробирке и обеспечит корректный результат. Допускается отклонение объёма образца в пробирке в пределах 10% (в соответствии с ГОСТ Р ИСО 6710-2021).

#### **6.4** Транспортирование и хранение образцов биологического материала

Примечание – Рекомендуется проводить получение плазмы и сыворотки в течение 6 часов после взятия материала.

Транспортировать и хранить образцы цельной крови и пробирки с сывороткой до начала исследования следует при температуре от 2 °С до 8 °С не более 12 часов.

**ВНИМАНИЕ!** Не допускается замораживание цельной крови!

Примечание – Не рекомендуется транспортирование и хранение пробирок с сывороткой при температуре ниже 0 °С во избежание повреждения геля и загрязнения образца продуктами гемолиза и фрагментами геля.

#### **6.5** Получение плазмы/сыворотки крови

Центрифугируйте пробирки с кровью при RCF(g) 800 – 1600 при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 20 мин.

Пробирки с сывороткой и разделительным гелем центрифугируют однократно для отделения сыворотки.

**ВНИМАНИЕ!**

1. В случае использования пробирок с разделительным гелем повторное центрифугирование запрещено во избежание повреждения геля и загрязнения образца продуктами гемолиза.
2. Избегайте попадания разделительного геля в образец сыворотки, так как он может вызвать ингибирование ПЦР/ОТ-ПЦР.

Если длительное хранение (более 12 часов) и архивирование плазмы/сыворотки не предполагается:

- для автоматических дозирующих устройств Freedom EVO® подготовленные (центрифугированные) пробирки с цельной кровью и сывороткой с разделительным гелем могут непосредственно использоваться для выделения НК). Для этого до начала проведения выделения храните пробирки с цельной кровью и пробирки с сывороткой вертикально в штативах, избегая наклона и переворачивания;
- для автоматических дозирующих устройств ДТстрим необходимо произвести предварительный перенос плазмы и сыворотки из первичных пробирок с цельной кровью и пробирок с разделительным гелем в новые пробирки типа Vacuette. Перенос может быть осуществлен как вручную с помощью дозатора, так и с использованием дозирующего устройства ДТстрим 12L1 или 15L1;

- для ручного выделения НК плазма и сыворотка переносятся с помощью дозатора в одноразовые пластиковые пробирки объёмом 1,5–2,0 мл.

Если предполагается хранение и архивирование плазмы крови, то после центрифугирования пробирок с цельной кровью следует отобрать с помощью дозатора верхнюю фракцию (плазму/сыворотку), не затрагивая разделительный гель (в случае использования пробирок с разделительным гелем), и перенести в отдельную пробирку типа Vacuette объёмом 4,0 мл, например, производства «Грейнер Био-Уан Гмбх» (кат. номер 454001).

Допускается хранение полученной плазмы/сыворотки при температуре от плюс 2 °С до плюс 8 °С не более 5 суток, при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более 3 месяцев, при температуре от минус 72 °С до минус 68 °С не более одного года.

#### **ВНИМАНИЕ!**

1. Следует избегать повторного замораживания и оттаивания образцов плазмы/сыворотки.
2. Избегайте попадания фрагментов разделительного геля в образец сыворотки.

## **7 ПРОВЕДЕНИЕ ВЫДЕЛЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ**

Для предупреждения кросс-контаминации биоматериалом в лаборатории рекомендуется выполнение следующих правил:

1. Необходимо проводить визуальную оценку поступившего биоматериала и выбраковку всех образцов, если среди них есть пробирки с нарушенной герметичностью.
2. Обязательно выполнять постановку отрицательных контрольных образцов, начиная с этапа выделения нуклеиновых кислот, в каждом протоколе.
3. Использовать на всех этапах исследования наконечники с аэрозольными фильтрами.
4. Четко соблюдать методику выполнения исследования, открывать пробирки типа Эппендорф при помощи пинцета (не допускать касаний руки в перчатке внутренней части крышки пробирки); при внесении реагентов не касаться наконечником пробирки (если это произошло, сразу заменить наконечник).

## 7.1 Подготовка образцов плазмы/сыворотки к выделению НК

Подготовка образцов плазмы/сыворотки проводится в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 – Режимы подготовки образцов плазмы/сыворотки крови

Температура хранения образцов плазмы/сыворотки	Подготовка образцов плазмы/сыворотки
От минус 18 °С и ниже	1. Разморозьте образцы плазмы/сыворотки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С. 2. Перемешайте содержимое пробирок с образцами плазмы/сыворотки на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте при RCF(g) 14000 в течение 5 мин.  <b>ВНИМАНИЕ!</b> 1. Для выделения НК необходимо использовать надосадочную жидкость, не затрагивая осадка (при его наличии). 2. Если предполагается использование автоматических дозирующих устройств (типа ДТстрим и Freedom EVO®, то следует проводить центрифугирование при низких RCF(g) (например, при 800–1000), так как образующиеся в результате центрифугирования осадки могут препятствовать автоматическому забору плазмы.
От 2 °С до 8 °С	Перемешайте содержимое пробирок с образцами плазмы/сыворотки на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

## 7.2 Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот

Использование контрольных образцов на этапе выделения нуклеиновых кислот регламентировано инструкциями по применению наборов реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР.

Для исключения ложноотрицательных результатов исследования и контроля качества исследования рекомендуется использование внутреннего контроля.

**Внутренний контрольный образец** следует добавлять в анализируемые образцы на этапе выделения нуклеиновых кислот. Внутренний контрольный образец добавляют в анализируемый образец в количестве, указанном в инструкции по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР.

Для исключения ложноположительных результатов исследования и контроля качества исследования обязательно использование **отрицательного контрольного образца**, начиная с этапа выделения нуклеиновых кислот, одновременно с выделением нуклеиновых кислот вирусов из неизвестных образцов.

При проведении количественных исследований могут быть использованы **калибровочные образцы** (в соответствии с инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР). Калибровочные образцы должны быть использованы начиная с этапа выделения нуклеиновых кислот одновременно с выделением нуклеиновых кислот вирусов из неизвестных образцов. Подготовка калибровочных образцов проводится в соответствии с инструкцией по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР.

**ВНИМАНИЕ!**

1. На этапе выделения нуклеиновых кислот, за исключением этапа отбора надосадочной жидкости с использованием аспиратора, необходимо использовать только наконечники с фильтром, свободные от РНКаз и ДНКаз. При работе с аспиратором используйте наконечники без фильтра, свободные от РНКаз и ДНКаз.
2. Используемые наконечники меняйте при каждом удалении раствора из пробирки.
3. Для предотвращения контаминации следует перед внесением образцов открывать крышку только той пробирки, в которую будет вноситься данный образец, и закрывать её перед внесением следующего. Не допускается работать одновременно с несколькими пробирками с открытыми крышками.
4. При добавлении раствора в пробирку/лунку, содержащую биологический материал, вносите раствор аккуратно, не касаясь стенок пробирки/лунки. При касании стенки пробирки/лунки смените наконечник.

**7.3** Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке N и магнитного штатива

**ВНИМАНИЕ!**

1. Перед началом работы необходимо включить термостат для прогрева до 65 °С.
2. При прогревании пробирок с образцами возможно открывание крышек! Следует использовать пробирки с защёлкивающимися крышками (например, Eppendorf Safe-Lock Tubes) или программируемые термостаты с прижимной крышкой (например, термостат твердотельный программируемый малогабаритный ТТ-1-«ДНК-Техн.», производства ООО «НПО ДНК-Технология»).

7.3.1 Промаркируйте необходимое количество одноразовых пластиковых пробирок объёмом 1,5–2,0 мл:

- по одной пробирке для каждого неизвестного образца плазмы/сыворотки;
- одну пробирку для отрицательного контрольного образца «К–»;

если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»<sup>1</sup>**, промаркируйте дополнительно:

- три пробирки для калибровочного образца «СТ1»;
- три пробирки для калибровочного образца «СТ2».

**ВНИМАНИЕ!** Количество реагентов рассчитано не более чем на 6 независимых процедур выделения при условии переменного количества неизвестных образцов и 1 отрицательного контрольного образца «К–» в каждой постановке. В случае если полученные НК будут использоваться для количественных исследований и использование калибровочных образцов предусмотрено в инструкции по применению набора реагентов

---

<sup>1</sup> – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

для количественного исследования, допускаются дополнительно 3 пробирки для калибровочного образца «СТ1» и 3 пробирки для калибровочного образца «СТ2» в каждой постановке.

7.3.2 Внесите контрольные и калибровочные образцы в соответствии с инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов.

В случае использования набора реагентов ПРОБА-МЧ-ЛАЙТ совместно **с наборами реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»** внесите во все промаркированные пробирки:

- при выделении РНК – по 20 мкл РНК-ВК "А";
- при выделении ДНК – по 20 мкл ДНК-ВК "А";
- в случае одновременного выделения РНК и ДНК – по 20 мкл РНК-ВК "А" и по 20 мкл ДНК-ВК "А".

Примечание – При малом объёме исследуемого материала возможно проведение выделения нуклеиновых кислот из 100 мкл неизвестного образца.

7.3.3 Перемешайте содержимое пробирок с сорбентом и протеиназой К на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.4 Добавьте во все пробирки по 550 мкл лизирующего раствора (бесцветный), по 15 мкл протеиназы К и по 20 мкл сорбента, не касаясь края пробирки. Закройте пробирки.

7.3.5 Внесите в соответствующие промаркированные пробирки по 250 мкл или по 100 мкл предварительно подготовленных образцов плазмы/сыворотки крови (см. 7.1), закройте пробирки. В пробирки, промаркированные «К–», «СТ1» и «СТ2», образцы плазмы/сыворотки не вносятся.

7.3.6 Перемешайте содержимое флакона с разбавителем для контрольных материалов переворачиванием флакона вверх дном 5–10 раз. Перемешайте содержимое пробирок с калибровочными образцами на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.7 Внесите в пробирку, промаркированную «К–», 250 мкл/100 мкл разбавителя для контрольных материалов, закройте пробирку.

7.3.8 Если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»<sup>1</sup>**, внесите в пробирки, промаркированные «СТ1» и «СТ2» (3 шт. для каждого калибровочного образца), по 20 мкл соответствующего калибровочного образца и по 230 мкл/80 мкл разбавителя для контрольных материалов. Закройте пробирки.

Примечание – В случае количественного исследования нескольких инфекций допускается приготовление комплексных калибровочных образцов. Для этого необходимо внести в каждую

---

<sup>1</sup> – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

пробирку, промаркированную СТ1, по 20 мкл калибровочного образца СТ1 из каждого набора реагентов; в каждую пробирку, промаркированную СТ2, по 20 мкл калибровочного образца СТ2 из каждого набора реагентов. Далее необходимо довести окончательный объём в каждой пробирке до 250 мкл/100 мкл внесением соответствующего объёма разбавителя для контрольных материалов.

Пример :

1. При выделении из 250 мкл:

Если предполагается количественное исследование HCV и HBV в одной постановке, то следует внести в пробирки СТ1 по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ1 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный»; в пробирки СТ2 – по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ2 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ2 из набора реагентов «HBV Количественный». Далее в каждую пробирку необходимо внести по 210 мкл разбавителя для контрольных материалов.

2. При выделении из 100 мкл:

Если предполагается количественное исследование HCV и HBV в одной постановке, то следует внести в пробирки СТ1 по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ1 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный»; в пробирки СТ2 – по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ2 из наборов реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный». Далее в каждую пробирку необходимо внести по 60 мкл разбавителя для контрольных материалов.

7.3.9 Встряхните все пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 10–15 с.

7.3.10 Инкубируйте пробирки при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) в течение 15 мин. В течение инкубирования рекомендуется однократно встряхнуть пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.3.11 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе и переместите в магнитный штатив на 1,5–2,0 мин до полной сепарации частиц сорбента.

7.3.12 Не задевая сорбент, полностью удалите надосадочную жидкость с помощью вакуумного отсасывателя (аспиратора) (отдельным наконечником без фильтра из каждой пробирки).

7.3.13 Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавьте по 350 мкл промывочного раствора №1 (**цвет раствора зелёный**). Закройте пробирки.

7.3.14 Перемешайте содержимое пробирок переворачиванием в течение 3–5 с.

7.3.15 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с, затем переместите пробирки в магнитный штатив на 1,5–2,0 мин до полной сепарации частиц сорбента.

7.3.16 Не задевая сорбент, полностью удалите надосадочную жидкость с помощью вакуумного отсасывателя (аспиратора) (отдельным наконечником без фильтра из каждой пробирки).

- 7.3.17 Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавьте по 750 мкл промывочного раствора №2 (**цвет раствора жёлтый**). Закройте пробирки.
- 7.3.18 Перемешайте содержимое пробирок переворачиванием в течение 3–5 с.
- 7.3.19 Центрифугируйте пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с, затем переместите пробирки в магнитный штатив на 1,5–2,0 мин до полной сепарации частиц сорбента.
- 7.3.20 Не задевая сорбент, полностью удалите надосадочную жидкость с помощью вакуумного отсасывателя (аспиратора) (отдельным наконечником без фильтра из каждой пробирки).
- 7.3.21 Повторите 7.3.17 – 7.3.20 (повторно проведите промывку частиц промывочным раствором №2).
- 7.3.22 Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавьте по 100 мкл элюирующего раствора (**бесцветный или розовый раствор**), не касаясь края пробирки. Закройте пробирки.
- 7.3.23 Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.3.24 Термостатируйте пробирки при 65 °С в течение 10 мин.
- 7.3.25 Встряхните пробирки на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.3.26 Осадите капли центрифугированием пробирок на микроцентрифуге-вортексе в течение 30 с.
- 7.3.27 Переместите пробирки в магнитный штатив.
- Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК.
- Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР. При использовании препарата НК для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР рекомендуется не вынимать пробирки с препаратом НК из магнитного штатива для предотвращения захвата сорбента в смесь для амплификации.

#### **7.4** Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке N и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах

- 7.4.1 Подготовьте к работе станцию для автоматического выделения нуклеиновых кислот AutoPure-96 или KingFisher Flex 96 согласно руководству по эксплуатации станции.
- 7.4.2 Подготовьте пустой глубоколоночный планшет 96 лунок с насадкой на магнитные стержни.
- 7.4.3 Промаркируйте пять новых глубоколоночных планшетов 96 лунок:
- № 1 – для анализируемых образцов, лизирующего раствора и сорбента (LB),
  - № 2 – для промывочного раствора №1 (WB1),
  - № 3 – для промывочного раствора №2 (WB2),
  - № 4 – для промывочного раствора №2 (WB2),
  - № 5 – для элюирующего раствора (EB).

**ВНИМАНИЕ!** Количество реагентов рассчитано не более чем на одну независимую процедуру выделения при условии:

- 94 неизвестных образцов и отрицательного контрольного образца «К–» в 2-х повторях в постановке, если полученные НК будут использоваться для качественных исследований;
- 88 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К–» в 2-х повторях, калибровочного образца «СТ1» в 3-х повторях и калибровочного образца «СТ2» в 3-х повторях в постановке, если полученные НК будут использоваться для количественных исследований.

7.4.4 Внесите контрольные и калибровочные образцы в соответствии с инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов.

В случае использования набора реагентов ПРОБА-МЧ-ЛАЙТ совместно **с наборами реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»** внесите<sup>1</sup> в каждую лунку глубоколуночного планшета № 1 (LB):

- при выделении РНК – по 20 мкл РНК-ВК "А";
- при выделении ДНК – по 20 мкл ДНК-ВК "А";
- в случае одновременного выделения РНК и ДНК – по 20 мкл РНК-ВК "А" и по 20 мкл ДНК-ВК "А".

Примечание – При малом объеме исследуемого материала возможно проведение выделения нуклеиновых кислот из 100 мкл неизвестного образца.

7.4.5 Перемешайте содержимое пробирок с сорбентом и протеиназой К на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.4.6 Внесите в каждую лунку глубоколуночного планшета по 550 мкл лизирующего раствора (бесцветный), по 15 мкл протеиназы К и по 20 мкл сорбента.

7.4.7 Внесите в соответствующие лунки глубоколуночного планшета № 1 по 250 мкл или по 100 мкл неизвестных образцов.

7.4.8 Перемешайте содержимое флакона с разбавителем для контрольных материалов переворачиванием флакона вверх дном 5–10 раз. Перемешайте содержимое пробирок с калибровочными образцами на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

7.4.9 Внесите в лунку, предназначенную для отрицательного контрольного образца (К–) 250 мкл/100 мкл разбавителя для контрольных материалов (в зависимости от объема образца, из которого будет производиться выделение НК).

7.4.10 Если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»**<sup>2</sup>, внесите в лунки, предназначенные для калибровочных образцов СТ1 и СТ2 (3 лунки для

<sup>1</sup> – если это предусмотрено в инструкции по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР

<sup>2</sup> – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

каждого калибровочного образца), по 20 мкл соответствующего калибровочного образца и по 230 мкл/80 мкл разбавителя для контрольных материалов (в зависимости от объёма образца, из которого будет производиться выделение НК).

Примечание – В случае количественного исследования нескольких инфекций допускается приготовление комплексных калибровочных образцов. Для этого необходимо внести в каждую лунку, предназначенную для СТ1, по 20 мкл калибровочного образца СТ1 из каждого набора реагентов; в каждую лунку, предназначенную для СТ2, по 20 мкл калибровочного образца СТ2 из каждого набора реагентов. Далее необходимо довести окончательный объём в каждой лунке до 250 мкл/100 мкл внесением соответствующего объёма разбавителя для контрольных материалов.

Пример:

1. При выделении из 250 мкл:

Если предполагается количественное исследование HCV и HBV в одной постановке, то следует внести в лунки СТ1 по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ1 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный»; в лунки СТ2 – необходимо внести по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ2 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ2 из набора реагентов «HBV Количественный». Далее в каждую лунку необходимо внести по 210 мкл разбавителя для контрольных материалов.

2. При выделении из 100 мкл:

Если предполагается количественное исследование HCV и HBV в одной постановке, то следует внести в пробирки СТ1 по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ1 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный»; в пробирки СТ2 – по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ2 из наборов реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ2 из набора реагентов «HBV Количественный». Далее в каждую пробирку необходимо внести по 60 мкл разбавителя для контрольных материалов.

7.4.11 Внесите в каждую лунку глубоколоночного планшета № 2 (WB1) по 350 мкл промывочного раствора №1 (**цвет раствора зелёный**).

7.4.12 Внесите в каждую лунку глубоколоночных планшетов № 3 и 4 (WB2) по 730 мкл промывочного раствора №2 (**цвет раствора жёлтый**).

7.4.13 Внесите в каждую лунку глубоколоночного планшета № 5 (EB) по 110 мкл элюирующего раствора (**бесцветный или розовый раствор**).

7.4.14 Установите все планшеты в соответствующие позиции станции AutoPure-96 или KingFisher Flex 96. Выберите и запустите сценарий выделения НК.

7.4.15 Дождитесь завершения автоматического выделения нуклеиновых кислот.

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР (находится в планшете № 5 с элюирующим раствором). При хранении планшета с выделенными НК используйте адгезивную плёнку<sup>1</sup> для заклеивания планшета.

<sup>1</sup> – не входит в состав набора реагентов

**7.5** Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке А, дозирующего устройства ДТстрим и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах

**ВНИМАНИЕ!** Рекомендуется хранить картриджи с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) во избежание сильного кристаллообразования. В случае если набор реагентов хранился при температуре ниже 18 °С, необходимо не менее 4 часов выдержать картриджи с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

7.5.1 Подготовьте к работе дозирующее устройство ДТстрим 15L4 либо ДТстрим 12L4 согласно руководству по эксплуатации.

7.5.2 Подготовьте к работе станцию для автоматического выделения нуклеиновых кислот AutoPure-96 или KingFisher Flex 96 согласно руководству по эксплуатации станции.

7.5.3 Подготовьте пустой глубоколоночный планшет 96 лунок с насадкой на магнитные стержни.

#### 7.5.4 Аликвотирование образцов

7.5.4.1 Промаркируйте пять новых глубоколоночных планшетов 96 лунок:

- № 1 – для анализируемых образцов, лизирующего раствора и сорбента (LB),
- № 2 – для промывочного раствора №1 (WB1),
- № 3 – для промывочного раствора №2 (WB2),
- № 4 – для промывочного раствора №2 (WB2),
- № 5 – для элюирующего раствора (EB).

**ВНИМАНИЕ!** Количество реагентов рассчитано на одну независимую процедуру выделения при условии:

- 94 неизвестных образцов и отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах в постановке, если полученные НК будут использоваться для качественных исследований;
- 88 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах, калибровочного образца «СТ1» в 3-х повторах и калибровочного образца «СТ2» в 3-х повторах в постановке, если полученные НК будут использоваться для количественных исследований;

либо на две независимые процедуры выделения при условии:

- 46 неизвестных образцов и отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах в каждой постановке, если полученные НК будут использоваться для качественных исследований;
- 40 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах, калибровочного образца «СТ1» в 3-х повторах и калибровочного образца «СТ2» в 3-х повторах в каждой постановке, если полученные НК будут использоваться для количественных исследований.

7.5.4.2 Распакуйте штативы с одноразовыми наконечниками с фильтром, свободными от РНКаз и ДНКаз, снимите крышки и установите штативы на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим.

7.5.4.3 Установите картридж № 1 и картридж № 2 на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим скошенным углом вперед, снимите защитную крышку.

**ВНИМАНИЕ!** Не снимайте фольгу с картриджами с реагентами и не прокалывайте её.

7.5.4.4 Установите пробирки с РНК-ВК "А" или ДНК-ВК "А"<sup>1</sup>, протеиназой К, разбавителем для контрольных материалов в штатив для реагентов. Если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»<sup>2</sup>**, установите пробирки с калибровочными образцами СТ1 и СТ2 в штатив для реагентов.

7.5.4.5 Установите глубоколоночные планшеты № 1 (LB), № 2 (WB1), № 3 и № 4 (WB2) и № 5 (EB) на рабочий стол устройства ДТстрим.

7.5.4.6 Установите пробирки с неизвестными образцами в штатив для неизвестных образцов на рабочем столе ДТстрим.

7.5.4.7 Подготовьте устройство сброса в соответствии с руководством по эксплуатации дозирующего устройства.

7.5.4.8 Проверьте готовность дозирующего устройства ДТстрим:

- наличие устройства сброса наконечников;
- соответствие расположения реагентов, расходных материалов и образцов схеме рабочего стола.

7.5.4.9 Используя меню запуска ДТстрим или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение дозирования реагентов. Выберите объём образца, из которого будет производится выделение НК – 100 мкл или 250 мкл. Дозирующее устройство проведет автоматическое аликвотирование лизирующего раствора, внутренних контролей, протеиназы К и сорбента; приготовление отрицательных контролей, калибровочных образцов и внесение неизвестных образцов в глубоколоночный планшет.

#### 7.5.5 Подготовка DWP

7.5.5.1 Используя меню запуска ДТстрим или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), выберите и запустите сценарий подготовки DWP.

Дозирующее устройство проведет аликвотирование промывочных растворов №1 (**цвет раствора зелёный**) и №2 (**цвет раствора жёлтый**), элюирующего раствора (**бесцветный или розовый раствор**).

7.5.5.2 Дождитесь окончания аликвотирования и подготовки DWP, затем установите все планшеты в соответствующие позиции станции AutoPure-96 или KingFisher Flex 96. Выберите и запустите сценарий выделения НК.

7.5.5.3 Дождитесь завершения автоматического выделения нуклеиновых кислот.

---

<sup>1</sup> – если это предусмотрено в инструкции по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР

<sup>2</sup> – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР (находится в планшете № 5 с элюирующим раствором). При хранении планшета с выделенными НК используйте адгезивную плёнку<sup>1</sup> для заклеивания планшета.

**7.6** Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке А, дозирующей станции Freedom EVO® (TECAN) и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах

**ВНИМАНИЕ!** Рекомендуется хранить картриджи с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) во избежание сильного кристаллообразования. В случае если набор реагентов хранился при температуре ниже 18 °С, необходимо не менее 4 часов выдержать картриджи с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

7.6.1 Подготовьте к работе дозирующее устройство Freedom EVO® согласно руководству по эксплуатации.

7.6.2 Подготовьте к работе станцию для автоматического выделения нуклеиновых кислот AutoPure-96 или KingFisher Flex 96 согласно руководству по эксплуатации станции.

7.6.3 Подготовьте пустой глубоколоночный планшет 96 лунок с насадкой на магнитные стержни.

#### 7.6.4 Аликвотирование образцов

7.6.4.1 Промаркируйте пять новых глубоколоночных планшетов 96 лунок:

- № 1 – для анализируемых образцов, лизирующего раствора и сорбента (LB),
- № 2 – для промывочного раствора №1 (WB1),
- № 3 – для промывочного раствора №2 (WB2),
- № 4 – для промывочного раствора №2 (WB2),
- № 5 – для элюирующего раствора (EB).

**ВНИМАНИЕ!** Количество реагентов рассчитано на одну независимую процедуру выделения при условии:

- 94 неизвестных образцов и отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах в постановке, если полученные НК будут использоваться для качественных исследований;
- 88 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах, калибровочного образца «СТ1» в 3-х повторах и калибровочного образца «СТ2» в 3-х повторах в постановке, если полученные НК будут использоваться для количественных исследований; либо на две независимые процедуры выделения при условии:
  - 46 неизвестных образцов и отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах в каждой постановке, если полученные НК будут использоваться для качественных исследований;
  - 40 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах, калибровочного образца «СТ1» в 3-х повторах и калибровочного образца «СТ2» в 3-х повторах в каждой постановке, если полученные НК будут использоваться для количественных исследований.

---

<sup>1</sup> - не входит в состав набора реагентов

- 7.6.4.2 Распакуйте штативы с одноразовыми наконечниками с фильтром, свободными от РНКаз и ДНКаз, снимите крышки и установите штативы на рабочий стол дозирующей станции Freedom EVO®.
- 7.6.4.3 Установите картридж № 1 и картридж № 2 на рабочий стол дозирующей станции Freedom EVO® скошенным углом вперед, снимите защитную крышку.

**ВНИМАНИЕ!** Не снимайте фольгу с картриджей с реагентами и не прокалывайте её.

- 7.6.4.4 Установите глубоколоночные планшеты № 1 (LB), № 2 (WB1), № 3 и № 4 (WB2) и № 5 (EB) на рабочий стол дозирующей станции Freedom EVO®.
- 7.6.4.5 Установите пробирки с РНК-ВК "А" или ДНК-ВК "А"<sup>1</sup>, протеиназой К, разбавителем для контрольных материалов в штатив для реагентов; если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»<sup>2</sup>**, установите пробирки с калибровочными образцами СТ1 и СТ2 в штатив для реагентов.
- 7.6.4.6 Установите пробирки с неизвестными образцами в штатив для неизвестных образцов дозирующей станции Freedom EVO®.
- 7.6.4.7 Проверьте готовность дозирующей станции Freedom EVO®:
- наличие устройства сброса наконечников;
  - соответствие расположения реагентов, расходных материалов и образцов схеме рабочего стола.
- 7.6.4.8 Используя меню запуска Freedom EVO® или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение дозирования реагентов. Выберите объём образца, из которого будет производится выделение НК – 100 мкл или 250 мкл. Станция проведет автоматическое аликвотирование лизирующего раствора, внутренних контролей, протеиназы К и сорбента; приготовление отрицательных контролей К-, калибровочных образцов и внесение неизвестных образцов в глубоколоночный планшет.

#### 7.6.5 Подготовка DWP

- 7.6.5.1 Используя меню запуска Freedom EVO® или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), выберите и запустите сценарий подготовки DWP. Станция проведет аликвотирование промывочных растворов №1 (**цвет раствора зелёный**) и №2 (**цвет раствора жёлтый**) и элюирующего раствора (**бесцветный или розовый раствор**).
- 7.6.5.2 Дождитесь окончания аликвотирования и подготовки DWP, затем установите все планшеты в соответствующие позиции станции AutoPure-96 или KingFisher Flex 96. Выберите и запустите сценарий выделения НК.
- 7.6.5.3 Дождитесь завершения автоматического выделения нуклеиновых кислот.

<sup>1</sup> – если это предусмотрено в инструкции по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР

<sup>2</sup> – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР (находится в планшете № 5 с элюирующим раствором). При хранении планшета с выделенными НК используйте адгезивную плёнку<sup>1</sup> для заклеивания планшета.

**7.7** Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке Р и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах

**ВНИМАНИЕ!** Рекомендуется хранить картридж с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) во избежание сильного кристаллообразования. В случае если набор реагентов хранился при температуре ниже 18 °С, необходимо не менее 4 часов выдержать картридж с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

7.7.1 Подготовьте к работе станцию для автоматического выделения нуклеиновых кислот AutoPure-96 или KingFisher Flex 96 согласно руководству по эксплуатации станции.

7.7.2 Подготовьте пустой глубоколоночный планшет 96 лунок с насадкой на магнитные стержни.

7.7.3 Промаркируйте один новый глубоколоночный планшет 96 лунок для анализируемых образцов, лизирующего раствора и сорбента – планшет № 1 (LB).

7.7.4 Промаркируйте четыре глубоколоночных планшета из состава набора реагентов:

- № 2 – для промывочного раствора №1 (WB1),
- № 3 – для промывочного раствора №2 (WB2),
- № 4 – для промывочного раствора №2 (WB2),
- № 5 – для элюирующего раствора (EB).

**ВНИМАНИЕ!** Количество реагентов рассчитано на одну независимую процедуру выделения при условии:

- 94 неизвестных образцов и отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах в постановке, если полученные НК будут использоваться для качественных исследований;
- 88 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К-» в 2-х повторах, калибровочного образца «СТ1» в 3-х повторах и калибровочного образца «СТ2» в 3-х повторах в постановке, если полученные НК будут использоваться для количественных исследований.

7.7.5 Внесите контрольные и калибровочные образцы в соответствии с инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов.

В случае использования набора реагентов ПРОБА-МЧ-ЛАЙТ совместно с наборами реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС» внесите<sup>2</sup> в каждую лунку глубоколоночного планшета № 1 (LB):

- при выделении РНК – по 20 мкл РНК-ВК "А";
- при выделении ДНК – по 20 мкл ДНК-ВК "А";
- в случае одновременного выделения РНК и ДНК – по 20 мкл РНК-ВК "А" и по 20 мкл ДНК-ВК "А".

<sup>1</sup> – не входит в состав набора реагентов

<sup>2</sup> – если это предусмотрено в инструкции по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР

Примечание – При малом объёме исследуемого материала возможно проведение выделения нуклеиновых кислот из 100 мкл неизвестного образца.

- 7.7.6 Аккуратно снимите фольгу с картриджа, избегая разбрызгивания жидкости.
- 7.7.7 Перемешайте содержимое пробирок с протеиназой К и сорбентом на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.7.8 Внесите в каждую лунку планшета № 1 (LB) по 550 мкл лизирующего раствора (из картриджа, **бесцветный раствор**), по 15 мкл протеиназы К и по 20 мкл сорбента.
- 7.7.9 Внесите в соответствующие лунки глубоколоночного планшета № 1 по 250 мкл или по 100 мкл неизвестных образцов.
- 7.7.10 Перемешайте содержимое пробирок с разбавителем для контрольных материалов и калибровочными образцами на микроцентрифуге-вортексе и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.
- 7.7.11 Внесите в лунку, предназначенную для отрицательного контрольного образца (К–) 250 мкл/100 мкл разбавителя для контрольных материалов (в зависимости от объёма образца, из которого будет производиться выделение НК).
- 7.7.12 Если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»<sup>1</sup>**, внесите в лунки, предназначенные для калибровочных образцов СТ1 и СТ2 (3 лунки для каждого калибровочного образца), по 20 мкл соответствующего калибровочного образца и по 230 мкл/80 мкл разбавителя для контрольных материалов (в зависимости от объёма образца, из которого будет производиться выделение НК).

Примечание – В случае количественного исследования нескольких инфекций допускается приготовление комплексных калибровочных образцов. Для этого необходимо внести в каждую лунку, предназначенную для СТ1, по 20 мкл калибровочного образца СТ1 из каждого набора реагентов; в каждую лунку, предназначенную для СТ2, по 20 мкл калибровочного образца СТ2 из каждого набора реагентов. Далее необходимо довести окончательный объём в каждой лунке до 250 мкл/100 мкл внесением соответствующего объёма разбавителя для контрольных материалов.

Пример:

1. При выделении из 250 мкл:

Если предполагается количественное исследование HCV и HBV в одной постановке, то следует внести в лунки СТ1 по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ1 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный»; в лунки СТ2 – по 20 мкл HCV-СТ2 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл HBV-СТ2 из набора реагентов «HBV Количественный». Далее в каждую лунку необходимо внести по 210 мкл разбавителя для контрольных материалов.

---

<sup>1</sup> – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

2. При выделении из 100 мкл:

Если предполагается количественное исследование HCV и HBV в одной постановке, то следует внести в лунки СТ1 по 20 мкл калибровочного образца HCV-СТ1 из набора реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный»; в лунки СТ2 – по 20 мкл HCV-СТ2 из наборов реагентов «HCV Количественный» и по 20 мкл калибровочного образца HBV-СТ1 из набора реагентов «HBV Количественный». Далее в каждую лунку необходимо внести по 60 мкл разбавителя для контрольных материалов.

7.7.13 При необходимости осадите капли и конденсат со стенок глубоколоночных планшетов из состава набора реагентов центрифугированием при RCF(g) 560 – 800 в течение 1–3 мин.

Примечание – Используйте в качестве противовеса глубоколоночные планшеты с дистиллированной водой, заклеенные адгезивной плёнкой.

7.7.14 Удалите защитную плёнку с глубоколоночных планшетов из состава набора реагентов.

7.7.15 Установите все планшеты в соответствующие позиции станции AutoPure-96 или KingFisher Flex 96. Выберите и запустите сценарий выделения НК.

7.7.16 Дождитесь завершения автоматического выделения нуклеиновых кислот.

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР (находится в планшете № 5 с элюирующим раствором). При хранении планшета с выделенными НК используйте адгезивную плёнку для заклеивания планшета.

**7.8** Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке Р, дозирующего устройства ДТстрим и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах

**ВНИМАНИЕ!** Рекомендуется хранить картридж с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) во избежание сильного кристаллообразования. В случае если набор реагентов хранился при температуре ниже 18 °С, необходимо не менее 4 часов выдержать картридж с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

7.8.1 Подготовьте к работе дозирующее устройство ДТстрим 15L4 или ДТстрим 12L4 согласно руководству по эксплуатации дозирующего устройства.

7.8.2 Подготовьте к работе станцию для автоматического выделения нуклеиновых кислот AutoPure-96 или KingFisher Flex 96 согласно руководству по эксплуатации станции.

7.8.3 Подготовьте пустой глубоколоночный планшет 96 лунок с насадкой на магнитные стержни.

7.8.4 **Аликвотирование образцов**

7.8.4.1 Промаркируйте один новый глубоколоночный планшет 96 лунок для анализируемых образцов, лизирующего раствора и сорбента – планшет № 1 (LB).

- 7.8.4.2 Промаркируйте четыре глубоколоночных планшета из состава набора реагентов:
- № 2 – для промывочного раствора №1 (WB1),
  - № 3 – для промывочного раствора №2 (WB2),
  - № 4 – для промывочного раствора №2 (WB2),
  - № 5 – для элюирующего раствора (EB).

**ВНИМАНИЕ!** Количество реагентов рассчитано на одну независимую процедуру выделения при условии:

- 94 неизвестных образцов и отрицательного контрольного образца «К–» в 2-х повторах в постановке, если полученные НК будут использоваться для качественных исследований;
- 88 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К–» в 2-х повторах, калибровочного образца «СТ1» в 3-х повторах и калибровочного образца «СТ2» в 3-х повторах в постановке, если полученные НК будут использоваться для количественных исследований.

7.8.4.3 Распакуйте штативы с одноразовыми наконечниками с фильтром, свободными от РНКаз и ДНКаз, снимите крышки и установите штативы на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим.

7.8.4.4 Установите картридж на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим скошенным углом вперед, снимите защитную крышку.

**ВНИМАНИЕ!** Не снимайте фольгу с картриджа с реагентами и не прокалывайте её.

7.8.4.5 Установите глубоколоночный планшет № 1 (LB) на рабочий стол дозирующего устройства ДТстрим.

7.8.4.6 Установите пробирки с неизвестными образцами в штатив для неизвестных образцов на рабочем столе ДТстрим.

7.8.4.7 Установите пробирки с РНК-ВК "А" или ДНК-ВК "А"<sup>1</sup>, протеиназой К, разбавителем для контрольных материалов в штатив для реагентов. Если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»<sup>2</sup>**, установите пробирки с калибровочными образцами СТ1 и СТ2 в штатив для реагентов.

7.8.4.8 Подготовьте устройство сброса в соответствии с руководством по эксплуатации дозирующего устройства.

7.8.4.9 Проверьте готовность дозирующего устройства ДТстрим:

- наличие устройства сброса наконечников;
- соответствие расположения реагентов, расходных материалов и образцов схеме рабочего стола.

---

<sup>1</sup> – если это предусмотрено в инструкции по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР

<sup>2</sup> – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

- 7.8.4.10 Используя меню запуска ДТстрим или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение дозирования реагентов. Выберите объём образца, из которого будет производится выделение НК – 100 мкл или 250 мкл. Дозирующее устройство проведет автоматическое аликвотирование лизирующего раствора, внутренних контролей, протеиназы К и сорбента; приготовление отрицательных контролей К- и калибровочных образцов и внесение неизвестных образцов в глубоколоночный планшет.
- 7.8.4.11 Дождитесь окончания аликвотирования.
- 7.8.4.12 Подготовьте к работе станцию для автоматического выделения нуклеиновых кислот AutoPure-96 или KingFisher Flex 96, установив глубоколоночный планшет с насадкой на магнитные стержни и глубоколоночный планшет № 1 (LB) в соответствующие позиции станции согласно руководству по эксплуатации.
- 7.8.4.13 При необходимости осадите капли и конденсат со стенок глубоколоночных планшетов из состава набора реагентов центрифугированием при RCF(g) 560 – 800 в течение 1–3 мин.

Примечание – Используйте в качестве противовеса глубоколоночные планшеты с дистиллированной водой, заклеенные адгезивной плёнкой.

- 7.8.4.14 Удалите защитную плёнку с глубоколоночных планшетов из состава набора реагентов.
- 7.8.5 Установите все планшеты в соответствующие позиции станции AutoPure-96 или KingFisher Flex 96. Выберите и запустите сценарий выделения НК.
- 7.8.6 Дождитесь завершения автоматического выделения нуклеиновых кислот. Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР (находится в планшете № 5 с элюирующим раствором). При хранении планшета с выделенными НК используйте адгезивную плёнку для заклеивания планшета.

**7.9** Подготовка и проведение выделения НК с использованием набора реагентов в фасовке Р, дозирующей станции Freedom EVO® (TECAN) и станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот в глубоколоночных планшетах

**ВНИМАНИЕ!** Рекомендуется хранить картридж с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) во избежание сильного кристаллообразования. В случае если набор реагентов хранился при температуре ниже 18 °С, необходимо не менее 4 часов выдержать картридж с реагентами при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С).

- 7.9.1 Подготовьте к работе дозирующую станцию Freedom EVO® согласно руководству по эксплуатации дозирующей станции.
- 7.9.2 Подготовьте к работе станцию для автоматического выделения нуклеиновых кислот AutoPure-96 или KingFisher Flex 96 согласно руководству по эксплуатации станции.
- 7.9.3 Подготовьте пустой глубоколоночный планшет 96 лунок с насадкой на магнитные стержни.

#### 7.9.4 Аликвотирование образцов

- 7.9.4.1 Промаркируйте один новый глубоколоночный планшет 96 лунок для анализируемых образцов, лизирующего раствора и сорбента – планшет № 1 (LB).
- 7.9.4.2 Промаркируйте четыре глубоколоночных планшета из состава набора реагентов:
- № 2 – с промывочным раствором №1 (WB1),
  - № 3 – с промывочным раствором №2 (WB2),
  - № 4 – с промывочным раствором №2 (WB2),
  - № 5 – с элюирующим раствором (EB).

**ВНИМАНИЕ!** Количество реагентов рассчитано на одну независимую процедуру выделения при условии:

- 94 неизвестных образцов и отрицательного контрольного образца «К–» в 2-х повторях в постановке, если полученные НК будут использоваться для качественных исследований;
- 88 неизвестных образцов, отрицательного контрольного образца «К–» в 2-х повторях, калибровочного образца «СТ1» в 3-х повторях и калибровочного образца «СТ2» в 3-х повторях в постановке, если полученные НК будут использоваться для количественных исследований.

7.9.4.3 Распакуйте штативы с одноразовыми наконечниками с фильтром, свободными от РНКаз и ДНКаз, снимите крышки и установите штативы на рабочий стол дозирующей станции Freedom EVO®.

7.9.4.4 Установите картридж на рабочий стол дозирующей станции Freedom EVO® скошенным углом вперед, снимите защитную крышку.

**ВНИМАНИЕ!** Не снимайте фольгу с картриджа с реагентами и не прокалывайте её.

7.9.4.5 Установите глубоколоночный планшет № 1 (LB) на рабочий стол дозирующей станции Freedom EVO®.

7.9.4.6 Установите пробирки с неизвестными образцами в штатив для неизвестных образцов дозирующей станции Freedom EVO®.

7.9.4.7 Установите пробирки с РНК-ВК "А" или ДНК-ВК "А"<sup>1</sup>, протеиназой К, разбавителем для контрольных материалов в штатив для реагентов. Если предполагается количественное исследование полученных НК с использованием **наборов реагентов производства ООО «ДНК-Технология ТС»<sup>2</sup>**, установите пробирки с калибровочными образцами СТ1 и СТ2 в штатив для реагентов.

7.9.4.8 Проверьте готовность дозирующей станции Freedom EVO®:

- наличие устройства сброса наконечников.
- соответствие расположения реагентов, расходных материалов и образцов схеме рабочего стола.

---

<sup>1</sup> – если это предусмотрено в инструкции по применению соответствующего набора реагентов для проведения ПЦР/ОТ-ПЦР

<sup>2</sup> – если используются наборы реагентов сторонних производителей, количество пробирок для калибровочных образцов определяется инструкциями по применению соответствующих наборов реагентов

7.9.4.9 Используя меню запуска Freedom EVO® или управляющий компьютер (см. руководство по эксплуатации), запустите выполнение дозирования реагентов.

Выберите объём образца, из которого будет производится выделение НК – 100 мкл или 250 мкл. Станция проведет автоматическое аликвотирование лизирующего раствора, внутренних контролей, протеиназы К и сорбента; приготовление отрицательных контролей К– калибровочных образцов и внесение неизвестных образцов в глубоколоночный планшет.

7.9.4.10 Дождитесь окончания аликвотирования.

7.9.4.11 При необходимости осадите капли и конденсат со стенок глубоколоночных планшетов из состава набора реагентов центрифугированием при RCF(g) 560 – 800 в течение 1–3 мин.

Примечание – Используйте в качестве противовеса глубоколоночные планшеты с дистиллированной водой, заклеенные адгезивной плёнкой.

7.9.4.12 Удалите защитную плёнку с глубоколоночных планшетов из состава набора реагентов.

7.9.5 Установите все планшеты в соответствующие позиции станции AutoPure-96 или KingFisher Flex 96. Выберите и запустите сценарий выделения НК.

7.9.6 Дождитесь завершения автоматического выделения нуклеиновых кислот.

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР (находится в планшете № 5 с элюирующим раствором). При хранении планшета с выделенными НК используйте адгезивную плёнку для заклеивания планшета.

## **7.10 Хранение и использование препарата НК**

7.10.1 Если предполагается использование препарата НК для постановки ОТ или ОТ-ПЦР (исследование РНК), допускается хранение препарата НК при температуре от 2 °С до 8 °С не более двух часов.

7.10.2 Если предполагается использование препарата НК для постановки ПЦР (исследование ДНК), допускается хранение препарата НК при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С не более одного месяца или при температуре от минус 72 °С до минус 68 °С не более 1 года, не размораживая до постановки.

### **ВНИМАНИЕ!**

1. При использовании набора реагентов в фасовке N для надежного хранения препарата НК (в случае исследования ДНК) необходимо перенести надосадочную жидкость в новые предварительно промаркированные одноразовые пробирки.

2. Для препарата НК допускается только однократное размораживание!

7.10.3 Если препараты НК хранились при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С или от минус 72 °С до минус 68 °С, перед использованием необходимо разморозить препараты НК, отрицательный контрольный образец и калибровочные образцы при комнатной температуре (от 18 °С до 25 °С) или при температуре от 2 °С до 8 °С.

7.10.4 Перед использованием препарата НК для постановки ПЦР/ОТ-ПЦР после хранения:

– Фасовки А, Р, N (выделение в глубоколоночных планшетах):

Центрифугируйте глубоколоночный планшет с препаратом НК, отрицательным контрольным образцом и калибровочными образцами при RCF(g) 100 в течение 30 с для осаждения конденсата, снимите адгезивную плёнку.

– Фасовка N (выделение в пробирках 1,5–2,0 мл):

Поместите пробирки с препаратом НК, отрицательным контрольным образцом и калибровочными образцами в магнитный штатив.

В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенные НК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом НК, отрицательным контрольным образцом и калибровочными образцами на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с

Препарат НК готов к внесению в реакционную смесь для ПЦР/ОТ-ПЦР.

## **8 ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ, ХРАНЕНИЕ И ЭКСПЛУАТАЦИЯ**

### **8.1** Транспортирование

- 8.1.1 Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.
- 8.1.2 Допускается транспортирование набора реагентов, за исключением протеиназы К, в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.
- 8.1.3 Допускается транспортирование протеиназы К в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера до 25 °С не более 5 суток.
- 8.1.4 Набор реагентов транспортировать в правильном положении в соответствии с манипуляционным знаком/надписью «ВЕРХ».
- 8.1.5 Наборы реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

### **8.2** Хранение

- 8.2.1 Все компоненты набора реагентов, за исключением протеиназы К, следует хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Картриджи с реагентами, разбавитель для контрольных материалов, лизирующий раствор, промывочный раствор №1, промывочный раствор №2, элюирующий раствор, следует хранить в защищённом от света месте.
- 8.2.2 Протеиназу К следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С в течение всего срока годности набора реагентов.
- 8.2.3 Набор реагентов следует хранить в правильном положении в соответствии с манипуляционным знаком/надписью «ВЕРХ».
- 8.2.4 Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

### **8.3** Указания по эксплуатации

- 8.3.1 Набор реагентов должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению.
- 8.3.2 Для получения достоверных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора реагентов.
- 8.3.3 После вскрытия упаковки компоненты набора реагентов следует хранить при следующих условиях:
- все компоненты набора реагентов, за исключением протеиназы К, следует хранить при температуре от 2 °С до 25 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Картриджи с реагентами, разбавитель для контрольных материалов, лизирующий раствор, промывочный раствор №1, промывочный раствор №2,

элюирующий раствор следует хранить в защищённом от света месте;

- протеиназу К следует хранить в морозильной камере при температуре от минус 22 °С до минус 18 °С в течение всего срока годности набора реагентов;
- набор реагентов хранить в правильном положении в соответствии с манипуляционным знаком/надписью «ВЕРХ».

8.3.4 Наборы реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежат.

## **9 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ**

**9.1** При использовании набора реагентов в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы класса В, которые утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21 и МУ 1.3.2569-09.

**9.2** Наборы реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

## **10 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ**

**10.1** Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

**10.2** Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

## **11 РЕМОНТ И ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ**

Набор реагентов предназначен для однократного применения и не подлежит техническому обслуживанию и текущему ремонту.

## 12 СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Температурный диапазон
	Содержимого достаточно для проведения <n> тестов
	Использовать до
	Код партии (серии)
	Дата изготовления
	Запрет на повторное применение
	Обратитесь к инструкции по применению или к инструкции по применению в электронном виде
	Номер по каталогу
	Изготовитель
	Не допускать воздействия солнечного света
	Нестерильно
	Осторожно!

### 13 ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

ГОСТ ISO 14971-2021 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

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

ГОСТ Р 2.105-2019 Единая система конструкторской документации. Общие требования к текстовым документам

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

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

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

ГОСТ Р ИСО 15190-2023 Лаборатории медицинские. Требования безопасности

ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования

ГОСТ Р ИСО 18113-1-2024 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставленная изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования

ГОСТ Р ИСО 18113-2-2024 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставленная 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 53022.3-2008 Требования к качеству клинических лабораторных исследований, Ч.3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов

Примечание – Указанные выше стандарты были действующими на момент утверждения инструкции по применению. В дальнейшем при пользовании документом целесообразно проверить действие ссылочных нормативных документов на текущий момент. Если ссылочный документ заменён или изменён, то при применении настоящего документа следует пользоваться заменённым (изменённым) документом.

## 14 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

Производство наборов реагентов имеет сертифицированную систему менеджмента качества и соответствует требованиям стандарта систем менеджмента качества ISO 9001 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для молекулярно-генетической диагностики, и другого лабораторного применения, и ISO 13485 в области разработки, производства и продажи IVD реагентов и приборов для медицинской молекулярно-генетической диагностики.

**Производитель:** Общество с ограниченной ответственностью «ДНК-Технология ТС», ООО «ДНК-Технология ТС», Россия.

**Адрес производителя:** 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

**Место производства:** ООО «ДНК-Технология ТС», 117246, Россия, г. Москва, проезд Научный, д. 20, строение 4.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.

Служба клиентской поддержки:

8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),

+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья, звонок платный).

E-mail: [hotline@dna-technology.ru](mailto:hotline@dna-technology.ru),

[www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)