



НАБІР ДЛЯ ЕКСТРАКЦІЇ ВІРУСНОЇ РНК/ДНК

INSTANT Virus RNA/DNA Kit

Кат. №: **LUA-PCR.EXTR.250**
Кількість тестів: **250**

Дата випуску інструкції: **04-2023**
Версія: **1**

ЗМІСТ

1 ВСТУП	2
1.1 Призначення.....	2
1.2 Опис і принцип тесту.....	2
1.3 Примітки щодо використання цієї інструкції.....	2
2 ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ	3
3 КЛАСИФІКАЦІЯ GHS	3
3.1 Фрази про небезпеку.....	4
3.2 Застережні фрази.....	4
3.3 Заяви ЄС про небезпеку.....	4
4 ЗАГАЛЬНІ ПРИМІТКИ ТА РЕКОМЕНДАЦІЇ З ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ З РНК	4
5 УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ	5
6 ФУНКЦІОНАЛЬНЕ ТЕСТУВАННЯ ТА ТЕХНІЧНА ДОПОМОГА	5
7 ВИКОРИСТАННЯ ПРОДУКТУ ТА ГАРАНТІЯ	5
8 КОМПОНЕНТИ НАБОРУ	5
8.1 Компоненти, що входять до набору.....	5
8.2 Компоненти, що не входять до набору.....	6
8.3 Необхідні інструменти та аксесуари.....	6
8.4 Супутні продукти.....	6
9 ПІДГОТОВЧІ КРОКИ ПЕРЕД ПОЧАТКОМ	6
10 ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОДУКТУ	7
11 ВИДІЛЕННЯ ВІРУСНОЇ НУКЛЕІНОВОЇ КИСЛОТИ З 400 МКЛ (µL) ЗРАЗКА	7
11.1 Протокол 1: Виділення з сухих мазків і калу.....	7
11.2 Протокол 2: Ізоляція вірусних нуклеїнових кислот з використанням ВК Спайк-пробірки.....	7
11.3 Протокол 3: Ізоляція вірусних нуклеїнових кислот з використанням ВК Спайк-пробірки (модифікований).....	9
12 УСУНЕННЯ НЕСПРАВНОСТЕЙ	10

1 ВСТУП

1.1 Призначення

Набір для екстракції вірусної РНК/ДНК призначений для виділення як вірусної РНК, так і ДНК з 400 мкл (μl) вільних від клітин рідин організму людини.

Процедура базується на твердофазному методі виділення на основі спінової колонки та оптимізована для приготування високочистих вірусних РНК і ДНК із людської плазми та сироватки, спинномозкової рідини та супернатантів мазків і калу.

Набір для екстракції вірусної РНК/ДНК призначений для використання в поєднанні з якісними та кількісними методами ПЛР у реальному часі з діагностичною метою.

Набір призначений для використання фахівцями лабораторії.

1.2 Опис і принцип тесту

Процедура поєднує в собі лізис вихідного матеріалу з подальшим зв'язуванням вірусної РНК і ДНК на поверхні мембрани Спін-фільтра (Spin Filter). Після етапів промивання з високим і низьким вмістом солі вірусна нуклеїнова кислота елюється з мембрани водою, вільною від РНКаз.

Хімічні процеси виділення та протокол виділення оптимізовані для максимального виходу.

Набір містить протоколи для впровадження Внутрішнього позитивного Контролю (ВК) для моніторингу ефективності очищення, ампліфікації та виявлення вірусної нуклеїнової кислоти (→ 8.4 Супутні продукти).

Рекомендується використовувати РНК-носії для збільшення виходу виділення вірусної нуклеїнової кислоти із зразків з низькою концентрацією.

Зверніть увагу, що у разі використання РНК-носія кількісне визначення вірусних нуклеїнових кислот фотометричними або флуориметричними методами неможливо.



ЗВЕРНІТЬСЯ ДО ІНСТРУКЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯ

Перед використанням необхідно уважно ознайомитися з цією вкладкою в упаковці. Наведені інструкції необхідно відповідним чином виконувати. Достовірність результатів не може бути гарантована, якщо є будь-які відхилення від вказівок у цій інструкції.

1.3 Примітки щодо використання цієї інструкції

Для зручності та орієнтування в інструкції використовуються наступні попереджувальні та інформаційні символи, а також показана методологія:

Символ	Інформація
	КАТ. № Каталоговий номер.
	Вміст Містить кількість визначень IVD, як зазначено.
	Умови зберігання Зберігати при температурі між верхньою та нижньою межами, як зазначено.
	Зверніться до інструкції з використання Цієї інформації необхідно дотримуватися, щоб уникнути неправильного використання набору.
	Використати до Термін придатності. Продукт придатний для використання до зазначеної дати.
	Номер лоту Номер лоту набору.
	Символ CE-IVD Медичний прилад для діагностики <i>in vitro</i> .
	Виробник Контактна інформація виробника.
	Тільки для одноразового використання Не використовуйте компоненти двічі.
	Примітка/Увага Дотримуйтесь зазначених таким чином приміток, щоб забезпечити правильну роботу приладу та уникнути помилок при експлуатації для отримання правильних результатів.

В інструкції представлено такий системний підхід:

- Розділи та малюнки пронумеровані послідовно.
- Перехресне посилання позначається стрілкою (наприклад, → 1.3 Примітки щодо використання цієї інструкції).
- Робочі кроки пронумеровані.

2 ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

ПРИМІТКА

Заради безпеки та безперебійної роботи пристрою, уважно прочитайте цей розділ.

Дотримуйтесь усіх інструкцій з безпеки, пояснених в інструкції з використання, а також усіх повідомлень та інформації, які відображаються.

З матеріалами та реагентами, що містяться в наборі, слід поводитися з належною обережністю та увагою. Завжди надягайте рукавички під час роботи з цими реагентами та уникайте контакту зі шкірою! У разі контакту негайно промийте очі або шкіру великою кількістю води.



ТІЛЬКИ ДЛЯ ОДНОРАЗОВОГО ВИКОРИСТАННЯ!

Цей набір призначений тільки для одноразового використання!



УВАГА

Не ковтайте компоненти набору!

У лабораторних умовах з набором повинен працювати тільки навчений персонал!

Якщо пляшки з буфером пошкоджені або протікають, надягайте рукавички та захисні окуляри, коли викидаєте пляшки, щоб уникнути будь-яких травм.

Клінічні зразки завжди слід розглядати як потенційно інфекційні, і з ними завжди слід поводитися у безпечних умовах. Будь ласка, дотримуйтесь державних і місцевих норм безпеки та охорони навколишнього середовища.

Рідкі та тверді відходи, що утворюються під час обробки зразків, слід розглядати як потенційно інфекційні, з ними слід поводитися та утилізувати відповідно до місцевих правил безпеки.

Дотримуйтесь звичайних запобіжних заходів при використанні екстрагованих нуклеїнових кислот. Усі матеріали та реагенти, що використовуються для виділення РНК, не повинні містити РНКаз.



УВАГА

Не додавайте відбілювач або кислотні компоненти до відходів після підготовки зразка!



ПРИМІТКА

Екстрену медичну інформацію англійською та німецькою мовами можна отримати цілодобово за адресою:



Інформаційний центр по отруєнням, Фрайбург/Німеччина

Телефон: +49 (0)761 19 240

Для отримання додаткової інформації про класифікацію GHS, будь ласка, запитайте Паспорт безпеки (SDS) на сайті виробника, як зазначено на внутрішній сторінці обкладинки інструкції з використання.

3 КЛАСИФІКАЦІЯ GHS

Компонент	Небезпечний вміст	Символ GHS	Фрази про небезпеку	Застережні фрази	EUN
Протеїназа K	50-100% протеїнази	 	315, 319, 334, 335	280, 260, 308+313, 342+311 305+351+338, 302+352, 501	-
Розчин для лізису CLS	3-10% N-лауроіл-саркозинат натрію 1-3% гуанідиній хлорид		315, 318	280, 305+351+338, 310, 302+352, 501	-

Промивний розчин HS (конц.)	40-50% тіоціанат гуанідинію	 	302, 332, 314, 412	260, 280 308+310, 305+351+338, 303+361+353 273, 405, 501	032
--------------------------------	--------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------	----------------------------------------------------------------------	-----

3.1 Фрази про небезпеку

302	Шкідливий при проковтуванні.
314	Викликає серйозні опіки шкіри та ушкодження очей.
315	Викликає подразнення шкіри.
318	Викликає серйозне ушкодження очей.
319	Викликає серйозне подразнення очей.
332	Шкідливий при вдиханні.
334	При вдиханні може викликати симптоми алергії чи астми або утруднення дихання.
335	Може викликати подразнення дихальних шляхів.
412	Шкідливий для водних організмів з довготривалими наслідками.

3.2 Застережні фрази

260	Не вдихайте пил/дим/газ/туман/пари/аерозоль.
273	Уникайте потрапляння в навколишнє середовище.
280	Одягайте засоби захисту очей/обличчя.
302+352	У РАЗІ ПОПАДАННЯ НА ШКІРУ: Промийте великою кількістю води.
303+361+ 353	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ (або волосся): негайно зніміть весь забруднений одяг. Промийте шкіру водою/прийміть душ.
305+351+ 338	У РАЗІ ПОПАДАННЯ В ОЧІ: Обережно промийте водою протягом кількох хвилин. Витягніть контактні лінзи, якщо вони є та це легко зробити. Продовжуйте полоскання.
308+310	У РАЗІ контакту або занепокоєння: Негайно зателефонуйте в ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР/до лікаря.
308+313	У РАЗІ контакту або занепокоєння: Зателефонуйте в ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР/до лікаря.
310	Негайно телефонуйте до ТОКСИКОЛОГІЧНОГО ЦЕНТРУ/лікаря.
342+311	При появі респіраторних симптомів: Зателефонуйте в ТОКСИКОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР/до лікаря.
405	Зберігайте під замком.
501	Утилізуйте вміст/контейнер відповідно до місцевих/регіональних/національних/міжнародних правил.

3.3 Заяви ЄС про небезпеку

032	При контакт з кислотами виділяється дуже токсичний газ.
-----	---------------------------------------------------------

4 ЗАГАЛЬНІ ПРИМІТКИ ТА РЕКОМЕНДАЦІЇ З ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ З РНК

РНК набагато менш стабільна, ніж ДНК. Вона дуже чутлива до деградації ендogenous РНКазами в біологічному матеріалі та екзогенними РНКазами, які постійно присутні всюди в лабораторії. Для досягнення задовільних якісних і кількісних результатів у препаратах РНК, забруднення екзогенними РНКазами повинні бути зведені до мінімуму відповідно до наступних рекомендацій:

- Завжди надягайте латексні або вінілові рукавички під час роботи з реагентами та зразками РНК, щоб запобігти забрудненню РНКазою з поверхні шкіри або запиленого лабораторного обладнання.
- Час від часу міняйте рукавички та тримайте пробірки закритими.
- Зберігайте ізольовану РНК при низькій температурі або в замороженому стані.
- Максимально скоротіть час підготовки.
- Під час процедури використовуйте лише стерильні одноразові поліпропіленові пробірки (ці пробірки зазвичай не містять РНКазу).
- Одноразовий пластиковий посуд слід обробити перед використанням, щоб переконатися, що він не містить РНКазу. Пластиковий посуд слід ретельно промити з 0.1 М (М) NaOH, 1 мМ (mM) ЕДТА, а потім водою, вільною від РНКазу. Ви також можете взяти стійкий до хлороформу пластиковий посуд, промитий хлороформом, щоб інактивувати РНКазу.
- Весь скляний посуд слід обробити перед використанням, щоб переконатися, що він не містить РНКазу. Перед використанням скляний посуд слід очистити детергентом, ретельно промити та витримати в духовці при 240 °С (°C) протягом чотирьох або більше годин. Само по собі автоклавування не деактивує багато РНКаз повністю. Витримка в духовці інактивує РНКазу та гарантує відсутність інших

нуклеїнових кислот (таких як плазмідна ДНК) на поверхні скляного посуду. Ви також можете очистити скляний посуд з 0.1 % ДЕПК (диетилпірокарбонат). Скляний посуд необхідно занурити в 0.1 % розчин ДЕПК на 12 годин при 37 °C (°C), після чого автоклавувати або нагріти до 100 °C (°C) протягом 15 хвилин, щоб видалити залишки ДЕПК.

- Резервуари для електрофорезу слід очистити розчином детергенту (наприклад, 0.5 % SDS), ретельно промити водою, вільною від РНКаз, промити етанолом і, нарешті, дати висохнути.
- Усі буфери повинні бути приготовлені з ddH₂O, обробленої ДЕПК, що не містить РНКаз.
- Уникайте роботи з бактеріальними культурами, культурами клітин або іншими біологічними джерелами РНКаз у тій самій лабораторії, де проводиметься очищення РНК.
- Не використовуйте обладнання, скляний та пластиковий посуд, які використовуються для інших цілей, які можуть внести забруднення РНКазою у виділення РНК.

5 УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Усі компоненти набору транспортуються при температурі навколишнього середовища. Після прибуття зберігайте ліофілізовану **Протеїназу К** при температурі від 2 °C (°C) до 10 °C (°C). Аліквотуйте розчинену **Протеїназу К** і зберігайте при температурі від -40 °C (°C) до -15 °C (°C). Повторне заморожування та розморожування різко знижує активність!

Усі інші компоненти Набору для екстракції вірусної РНК/ДНК слід зберігати в сухому місці при кімнатній температурі (від 15 °C (°C) до 30 °C (°C)). При зберіганні при кімнатній температурі набір стабільний до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці на коробці набору.

Перед кожним використанням переконайтеся, що всі компоненти мають кімнатну температуру. Якщо в наданих розчинах є будь-які осадки, розчиніть їх обережним нагріванням.

Після додавання Етанолу зберігайте Промивний розчин LS і Промивний розчин HS щільно закритими при кімнатній температурі (від 15 °C (°C) до 30 °C (°C)).

6 ФУНКЦІОНАЛЬНЕ ТЕСТУВАННЯ ТА ТЕХНІЧНА ДОПОМОГА

Компанія гарантує правильну роботу набору для застосувань, як описано в інструкції. Цей набір було виготовлено та протестовано на підприємстві, сертифікованому за стандартом ISO 13485.

Ми залишаємо за собою право змінювати або модифікувати наші продукти для покращення їх продуктивності та дизайну. Якщо у вас виникли запитання чи проблеми щодо будь-яких аспектів Набору для екстракції вірусної РНК/ДНК або інших продуктів компанії, будь ласка, зв'яжіться з нашою командою технічної підтримки на сайті виробника, як зазначено на внутрішній сторінці обкладинки інструкції з використання.

7 ВИКОРИСТАННЯ ПРОДУКТУ ТА ГАРАНТІЯ

Набір не призначений для використання інших вихідних матеріалів або інших кількостей вихідних матеріалів, ніж ті, що вказані в інструкції (→ 10 Технічні характеристики продукту). Набори компанії можна використовувати в системах клінічних діагностичних лабораторій після того, як лабораторія перевірить повну діагностичну систему відповідно до вимог нормативних актів CLIA' 88 у США або еквівалентів в інших країнах.

Усі продукти, які продає компанія, проходять ретельний контроль якості та мають гарантію відповідності описаним вимогам за умови правильного використання. Про будь-які проблеми слід негайно повідомляти.





ПРИМІТКА

Набір є медичним виробом для діагностики *in vitro*!



8 КОМПОНЕНТИ НАБОРУ

8.1 Компоненти, що входять до набору

	 50	 250
Кат. №:	LUA-PCR.EXTR.50	LUA-PCR.EXTR.250
ВК Спайк-пробірка	Містить РНК-носії і Внутрішній Контроль Екстракції. Поставляється з аналізами на виявлення (→ 8.4 Супутні продукти).	
Розчин для лізису CLS	30 мл (ml)	120 мл (ml)
Протеїназа К	для 3 x 1.5 мл (ml) робочого розчину	для 14 x 1.5 мл (ml) робочого розчину
Промивний розчин HS (конц.)	15 мл (ml)	70 мл (ml)
Промивний розчин LS (конц.)	16 мл (ml)	2 x 36 мл (ml)
Вода без РНКаз	1 x 10 мл (ml)	4 x 10 мл (ml)

Спін-фільтр	1 x 50 шт	5 x 50 шт
Приймальні пробірки	1 x 300 шт	5 x 300 шт
Пробірки для елюювання	1 x 50 шт	5 x 50 шт
Інструкція з використання	1	1

8.2 Компоненти, що не входять до набору

- 96-99.8 % етанол (молекулярно-біологічного класу, неденатурований)
- Ізопропанол (класу молекулярної біології)
- Безпечні пробірки 2.0 мл (мл) з круглим дном
- Пробірка 15 мл (мл) (для приготування Розчину для лізису CLS/Майстер-мікс ВК)
- Фосфатно-сольовий буфер (ФСБ) для підготовки зразків калу
- Фізіологічний розчин (0.9 % NaCl) для приготування сухих мазків

8.3 Необхідні інструменти та аксесуари

- Термоміксер для пробірок 1.5 мл (мл) або 2.0 мл (мл) або водяна баня
- Відкалібровані дозатори та відповідні наконечники з фільтром
- Мікроцентрифуга ($\geq 10\,000 \times g$)
- Вортексний змішувач

8.4 Супутні продукти

- Набір для кількісного визначення РНК вірусу гепатиту С

LUA-PCR.HCV.32	32 визначення
LUA-PCR.HCV.96	96 визначень
LUA-PCR.HCV.192	192 визначення
- Набір для кількісного визначення ДНК вірусу гепатиту В

LUA-PCR.HBV.32	32 визначення
LUA-PCR.HBV.96	96 визначень
LUA-PCR.HBV.192	192 визначення
- Набір для кількісного визначення РНК вірусу гепатиту D (для використання з RotorGene™ 3000/6000/Q)

LUA-PCR.HDV-RG.32	32 визначення
LUA-PCR.HDV-RG.96	96 визначень
- Набір для кількісного визначення РНК вірусу гепатиту D (для використання з 7500 Fast/Light Cycler® 480)

LUA-PCR.HDV-LPB.32	32 визначення
LUA-PCR.HDV-LPB.96	96 визначень



ВАЖЛИВА ПРИМІТКА

Для правильного використання внутрішнього контролю прочитайте інструкцію щодо використання використовуваного аналізу виявлення.

9 ПІДГОТОВЧІ КРОКИ ПЕРЕД ПОЧАТКОМ

- Додайте до кожного флакона **Протеїнази К** 1.5 мл (мл) **Води, вільної від РНКаз**, ретельно перемішайте та зберігайте, як описано в Розділі 5.



ПРИМІТКА

Не використовуйте *попередньо підізьриту* **Воду, вільну від РНКаз** для відновлення **Протеїнази К!**

- Додайте до **Промивного розчину LS (конц.)** зазначену кількість абсолютного етанолу, ретельно перемішайте та зберігайте, як описано в Розділі 5.

LUA-PCR.EXTR.50	Додайте 64 мл (мл) етанолу до 16 мл (мл) Промивного розчину LS (конц.)
LUA-PCR.EXTR.250	Додайте 144 мл (мл) етанолу до 36 мл (мл) Промивного розчину LS (конц.)

- Додайте до **Промивного розчину HS (конц.)** зазначену кількість абсолютного етанолу, ретельно перемішайте та зберігайте, як описано в Розділі 5.

LUA-PCR.EXTR.50	Додайте 15 мл (мл) етанолу до 15 мл (мл) Промивного розчину HS (конц.)
LUA-PCR.EXTR.250	Додайте 70 мл (мл) етанолу до 70 мл (мл) Промивного розчину HS (конц.)

- Нагрійте термоміксер або водяну баню до 70 °C (°C).
- Аліквотуйте кожну до 1.0 мл (мл) **Води, вільної від РНКаз**, в кілька безпечних пробірок з круглим дном на 2.0 мл (мл) відповідно до необхідного об'єму елюювання та попередньо нагрійте до 70 °C (°C).



ПРИМІТКА

Попереднє нагрівання до 70 °C (°C) є важливим для ефективного елюювання екстрагованих нуклеїнових кислот. Переконайтеся, що температура попереднього нагрівання правильна, і не використовуйте більш об'єми аліквот, оскільки це може призвести до зниження попереднього нагрівання **Води, вільної від РНКаз**.

- Кроки центрифугування слід проводити при кімнатній температурі.

10 ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПРОДУКТУ

1. Вихідний матеріал:

- Свіжі або заморожені рідини організму, вільні від клітин (сироватка, плазма, спинномозкова рідина та кал)
- Мазок зібраний з епітеліальних поверхонь
- Стабілізатори: ЕДТА або цитрат
- Об'єм зразка 400 мкл (μl)

ПРИМІТКА

Уникайте заморожування та розморожування вихідного матеріалу.

2. Час ізоляції:

- Приблизно 30 хвилин

11 ВИДІЛЕННЯ ВІРУСНОЇ НУКЛЕІНОВОЇ КИСЛОТИ З 400 МКЛ (μL) ЗРАЗКА

11.1 Протокол 1: Виділення з сухих мазків і калу

У разі використання сухих мазків або калу, будь ласка, виконайте наведені нижче інструкції з підготовки, перш ніж продовжувати протокол 2.

Підготовка для сухих мазків

1. Помістіть тампон у реакційну безпечну пробірку з круглим дном на 2.0 мл (ml), що містить щонайменше 500 мкл (μl) фізіологічного розчину (0.9 % NaCl), та інкубуйте протягом 15 хвилин при кімнатній температурі.
2. Перемішайте тампоном, щоб розчинити зразок у фізіологічному розчині.
3. Відтисніть залишки рідини тампона до внутрішньої стінки пробірки та вийміть тампон.
4. Продовжуйте з **400 мкл (μl) зразка, вільного від частинок**, як описано в протоколі 2.

Відбір зразків калу

1. Зберіть 1 грам або 1 мл (ml) калу за допомогою стандартних пробірок для забору зразків.
2. Зразки можна транспортувати при кімнатній температурі, не перевищуйте 1 день після забору зразків. В іншому випадку забезпечте транспортування в охолоджених умовах.
3. Зразки можна зберігати в глибокій заморозці протягом кількох місяців при температурі від -20 °C (°C) до -70 °C (°C). Стабільність зразка залежить від обраної температури зберігання.

Підготовка зразка калу

1. Перенесіть приблизно 0.1 г (g) зразка калу в безпечну реакційну пробірку з круглим дном 2.0 мл (ml) і додайте 1000 мкл (μl) ФСР.
2. Ресуспендуйте зразок за допомогою вортекса протягом 5 секунд, і центрифугуйте його при макс. швидкості протягом 3 хвилин.
3. Продовжуйте з **400 мкл (μl) зразка без частинок**, як описано в протоколі 2.



ПРИМІТКА

Якщо зразок калу дуже твердий, подовжте час ресуспендування та розділіть зразок на більш дрібні шматочки дозуючи вгору та вниз. Може знадобитися відрізати кінчик дозатора, щоб збільшити отвір. Якщо отримані елюати каламутні, ми рекомендуємо очистити елюати центрифугуванням протягом 3 хвилин на максимальній швидкості (20 000 x g).

11.2 Протокол 2: Ізоляція вірусних нуклеїнових кислот з використанням ВК Спайк-пробірки



ПРИМІТКА

Заповніть необхідною кількістю **Води, вільної від РНКаз**, реакційну безпечну пробірку з круглим дном об'ємом 2.0 мл (ml), як описано в Розділі 9, та інкубуйте при 70 °C (°C) до етапу елюювання.

1. Перемішайте та центрифугуйте зразок перед використанням.



ПРИМІТКА

Центрифугування допомагає очистити зразок і запобігає засміченню Спін-фільтра.

2. Дозуйте в зазначеному порядку **80 мкл (μl)** відновленої **Протеїнази К** в реакційну безпечну пробірку з круглим дном об'ємом 2.0 мл (ml) та додайте **400 мкл (μl) зразка**. Добре перемішайте піпетуванням вгору та вниз.

**ПРИМІТКА**

Перед використанням переконайтеся, що Протеїназа К була доведена до кімнатної температури.

3. Потім додайте **400 мкл (μl) Розчину для лізису CLS**, та **10 мкл (μl) Розчину ВК** з ВК Спайк-пробірки до зразка, енергійно перемішайте на вортексі імпульсним методом протягом 10 секунд.

**ПРИМІТКА**

Ми рекомендуємо приготувати Розчин для лізису CLS/ВК Майстер-мікс, щоб внести однакову кількість ВК до всіх зразків.

4. Інкубуйте суміш при **70 °C (°C) протягом 10 хвилин**. Час від часу перемішуйте суміш під час лізису.

**ПРИМІТКА**

Ми рекомендуємо використовувати термальний міксер для нагрівання та безперервного струшування зразка. Альтернативно, перемішайте зразок на вортексі 3-4 рази під час інкубації. Перемішування підвищує ефективність лізису.

5. Після лізису протягом короткого проміжку часу відцентрифугуйте пробірку об'ємом 2.0 мл (ml), щоб видалити конденсат з кришки пробірки.
6. Додайте **800 мкл (μl) Ізопропанолу** (не входить до набору) до лізованого зразка, добре перемішайте піпетуванням вгору та вниз кілька разів або на вортексі. Центрифугуйте протягом короткого періоду часу.

**ПРИМІТКА**

Важливо, щоб зразок та Ізопропанол були добре перемішані, щоб отримати однорідний розчин.

7. Внесіть **800 мкл (μl) зразка** на Спін-фільтр, розміщений у Приймальній пробірці. Закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку.

**ПРИМІТКА**

Якщо розчин не повністю пройшов через Спін-фільтр, продовжте час центрифугування на вищій швидкості (до 14 000 x g).

8. Внесіть **залишковий зразок** на Спін-фільтр, розміщений у Приймальній пробірці на 2.0 мл (ml). Закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку.
9. Відкрийте Спін-фільтр і додайте **500 мкл (μl) Промивного розчину HS**, закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку.
10. Відкрийте Спін-фільтр і додайте **650 мкл (μl) Промивного розчину LS**, закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку.
11. Відкрийте Спін-фільтр і додайте **650 мкл (μl) Промивного розчину LS**, закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку на 2.0 мл (ml).

**ПРИМІТКА**

Уникайте перехресного забруднення під час додавання Промивних розчинів HS і LS та Води, вільної від РНКаз. Змініть наконечники дозаторів і не торкайтеся мембрани або внутрішніх поверхонь Спін-фільтра, коли наконечники дозаторів використовуються неодноразово.

12. Центрифугуйте на макс. швидкості протягом 5 хвилин, щоб видалити всі сліди етанолу. Викиньте Приймальну пробірку.
13. Помістіть Спін-фільтр у Пробірку для елюювання об'ємом 1.5 мл (ml). Обережно відкрийте кришку Спін-фільтра і додайте **60 мкл (μl) Води, вільної від РНКаз**, попередньо нагрітої до 70 °C (°C), на зв'язувальну мембрану.

**ПРИМІТКА**

Для належного елюювання переконайтеся, що попередньо нагріта Вода, вільна від РНКаз, повністю контактує з мембраною Спін-фільтра. Не торкайтеся мембрани кінчиком дозатора.

14. Закрийте кришкою та інкубуйте Спін-фільтр та Пробірку для елюювання при **70 °C (°C) протягом 2 хвилин**.

**ПРИМІТКА**

Ефективність елюювання залежить від теплового ефекту попередньо нагрітої Води, вільної від РНКаз. Перед остаточним центрифугуванням переконайтеся, що Спін-фільтр нагрітий до 70 °C (°C).

15. Центрифугуйте при 8 000 x g (~10 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Спін-фільтр, закрийте Пробірку для елюювання та зберігайте її при низькій температурі або заморозте до подальшого використання.

11.3 Протокол 3: Ізоляція вірусних нуклеїнових кислот з використанням ВК Спайк-пробірки (модифікований)**ПРИМІТКА**

Заповніть необхідною кількістю **Води, вільної від РНКаз**, реакційну безпечну пробірку з круглим дном об'ємом 2.0 мл (ml), як описано в Розділі 9, та інкубуйте при 70 °C (°C) до етапу елюювання.

1. Перемішайте та центрифугуйте зразок перед використанням.

**ПРИМІТКА**

Центрифугування допомагає очистити зразок і запобігає засміченню Спін-фільтра.

2. Дозуйте в зазначеному порядку **40 мкл (µl) Протеїнази К** в порожню реакційну безпечну пробірку з круглим дном об'ємом 2.0 мл (ml) та додайте **400 мкл (µl) зразка**. Добре перемішайте на вортексі імпульсним методом протягом 10 секунд.

**ПРИМІТКА**

Перед використанням переконайтеся, що Протеїназа К була доведена до кімнатної температури.

3. Потім додайте **400 мкл (µl) Розчину для лізису CLS**, та **10 мкл (µl) Розчину ВК** з ВК РНК Спайк-пробірки до зразка, енергійно перемішайте на вортексі імпульсним методом протягом 10 секунд.

**ПРИМІТКА**

Ми рекомендуємо приготувати Розчин для лізису CLS/ВК РНК Майстер-мікс, щоб внести однакову кількість ВК до всіх зразків.

4. Інкубуйте суміш при **70 °C (°C) протягом 15 хвилин**. Час від часу перемішуйте суміш під час лізису.

**ПРИМІТКА**

Ми рекомендуємо використовувати термальний міксер для нагрівання та безперервного струшування зразка. Альтернативно, перемішайте зразок на вортексі 3-4 рази під час інкубації. Перемішування підвищує ефективність лізису.

5. Після лізису протягом короткого проміжку часу відцентрифугуйте пробірку об'ємом 2.0 мл (ml), щоб видалити конденсат з кришки пробірки.
6. Додайте **800 мкл (µl) Ізопропанолу** (не входить до набору) до лізованого зразка, добре перемішайте піпетуванням вгору та вниз кілька разів або на вортексі.

**ПРИМІТКА**

Важливо, щоб зразок та Ізопропанол були добре перемішані, щоб отримати однорідний розчин.

7. Внесіть **800 мкл (µl) зразка** на Спін-фільтр, розміщений у Приймальній пробірці на 2.0 мл (ml). Закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку.

**ПРИМІТКА**

Якщо розчин не повністю пройшов через Спін-фільтр, подовжте час центрифугування або центрифугуйте на вищій швидкості (до 14 000 x g).

8. Внесіть **залишковий зразок** на Спін-фільтр, розміщений у Приймальній пробірці на 2.0 мл (ml). Закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку.
9. Відкрийте Спін-фільтр і додайте **500 мкл (µl) Промивного розчину HS**, закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку.
10. Відкрийте Спін-фільтр і додайте **650 мкл (µl) Промивного розчину LS**, закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку.

11. Відкрийте Спін-фільтр і додайте **650 мкл (µl) Промивного розчину LS**, закрийте кришку та центрифугуйте при 10 000 x g (~12 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Приймальну пробірку з фільтратом. Помістіть Спін-фільтр у нову Приймальну пробірку.



ПРИМІТКА

Уникайте перехресного забруднення під час додавання Промивних розчинів HS і LS та Води, вільної від РНКаз. Змініть наконечники дозаторів і не торкайтеся мембрани або внутрішніх поверхонь Спін-фільтра, коли наконечники дозаторів використовуються неодноразово.

12. Центрифугуйте на макс. швидкості протягом 5 хвилин, щоб видалити всі сліди етанолу. Викиньте Приймальну пробірку.
13. Помістіть Спін-фільтр у Пробірку для елюювання об'ємом 1.5 мл (ml). Обережно відкрийте кришку Спін-фільтра і додайте **60 мкл (µl) Води, вільної від РНКаз** (попередньо нагрітої до 70 °C (°C)).



ПРИМІТКА

Для належного елюювання переконайтеся, що попередньо нагріта Вода, вільна від РНКаз, повністю контактує з мембраною Спін-фільтра. Не торкайтеся мембрани кінчиком дозатора.

14. Закрийте кришкою та інкубуйте Спін-фільтр та Пробірку для елюювання при **70 °C (°C) протягом 2 хвилин**.



ПРИМІТКА

Ефективність елюювання залежить від теплового ефекту попередньо нагрітої Води, вільної від РНКаз. Перед остаточним центрифугуванням переконайтеся, що Спін-фільтр нагрітий до 70 °C (°C).

15. Центрифугуйте при 8 000 x g (~10 000 об/хв (rpm)) протягом 1 хвилини. Викиньте Спін-фільтр, закрийте Пробірку для елюювання та зберігайте її при низькій температурі або заморозте до подальшого використання.

12 УСУНЕННЯ НЕСПРАВНОСТЕЙ

Проблема/ймовірна причина	Коментарі та пропозиції
Забитий Спін-фільтр	
Недостатній час лізису та/або забагато вихідного матеріалу	Збільшити час лізису. Зменшити кількість вихідного матеріалу. Збільшити швидкість центрифугування.
Зразок містить згустки	Збільшити швидкість центрифугування.
Низька кількість екстрагованої вірусної РНК/ДНК	
Недостатній час лізису	Збільшити час лізису. Зменшити кількість вихідного матеріалу. Перевантаження Спін-фільтра знижує вихід!
Неповне елюювання	Перевірити, чи температура інкубації становить 70 °C (°C) . Повторити етап елюювання ще раз. Взяти більшу кількість Води, вільної від РНКаз.
Недостатнє змішування з Ізопропанолом	Змішати зразок з Ізопропанолом дозуванням або перемішуванням на вортексі перед перенесенням зразка на Спін-фільтр.
Низька концентрація екстрагованої вірусної РНК	
Занадто багато Води, вільної від РНКаз	Виконати елюювання вірусної РНК меншим об'ємом Води, вільної від РНКаз.

Вся продукція IVD, вироблена компанією, перебуває під контролем сертифікованої Системи управління якістю, схваленої Уповноваженим органом з оцінки відповідності. Кожна партія проходить контроль якості та випускається на ринок лише за умови відповідності технічним регламентам та критеріям прийнятності.



ВИРОБНИК:

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»
Україна, 76018
м. Івано-Франківськ, вул. Петлюри, 25
Моб.: +38 (067) 000-20-22
E-mail: info@labua.com.ua

