УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра здравоохранения
Республики Беларусь
_____ И.В. Босицкий
«26» 04 2018

УТВЕРЖДАЮ
Директор Государственного
учреждения «РНПЦ эпидемиологии и
микробиологии»
_____ В.А. Горбунов
«28» января 2018 г.

НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК И РНК ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА МЕТОДОМ ПРЕЦИПИТАЦИИ

«НК экстра»

инструкция по применению

СОГЛАСОВАНО
Заместитель директора
РУП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»
_____ С.И. Зинченко
«25» 04 2018 г.

СОГЛАСОВАНО
Главный врач УЗ «Городская инфекционная клиническая больница»
_____ Н.Н. Юровский
«30» января 2018 г.

СОГЛАСОВАНО
Директор ГУ «Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»
_____ К.У. Вильчук
«__» 04 2018 г.

СОГЛАСОВАНО
И.о. Главный врач УЗ «Минская областная клиническая больница»
_____ А.С. Королько
«18» апреля 2018 г.

Министерство здравоохранения Республики Беларусь
Республиканское унитарное предприятие «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»
Для документов

ВЕРНО
ведущий специалист
организационно-методического отдела
Махоткина
18.04.2023

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

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор НК экстра» предназначен для одновременного выделения ДНК и РНК из биологического материала и последующего анализа, выделенных нуклеиновых кислот (НК), методом ПЦР. Материалом для выделения НК служат: клинические образцы (плазма крови, слюна, эпителий слизистых оболочек, ликвор), полевой материал (суспензии клещей и органов животных), а также смывы с объектов окружающей среды и поверхности фильтров.

Набор «НК экстра» выпускается в следующих комплектациях:

Комплект 1 – набор «НК экстра», обеспечивающий проведение 50 выделений НК из биологического материала.

Комплект 2 – набор «НК экстра», обеспечивающий проведение 100 выделений НК из биологического материала.

2. СОСТАВ

В комплект набора «НК экстра» входит:

№	Реактив	Комплект 1		Комплект 2	
		Объем, мл	Количество, шт	Объем, мл	Количество, шт
1	Лизирующий раствор	20	1	40	1
2	Раствор для преципитации	25	1	50	1
3	Промывочный раствор	40	1	40	2
4	Буфер для растворения НК	3	2	3	4
5	Инструкция	-	1	-	1

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С ТЕСТ-СИСТЕМОЙ

Работа должна проводиться с соблюдением Санитарных норм и правил «Требования безопасности при осуществлении работ с условно-патогенными микроорганизмами и патогенными биологическими агентами, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки».

Работа проводится только в одноразовых перчатках, с использованием одноразовых наконечников для автоматических пипеток с аэрозольным барьером. Обеззараживание и утилизация отходов, образовавшихся в ходе работы с набором, осуществляется в соответствии с Санитарными правилами и нормами 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами». Поверхности столов, а также помещения, где проводится выделение нуклеиновых кислот, должны обязательно до начала и после окончания работ облучаться ультрафиолетовым светом.

Набор применять строго по назначению, согласно данной инструкции.

Не использовать набор по истечению срока годности.

4. МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, ТРЕБУЮЩИЕСЯ ДОПОЛНИТЕЛЬНО

4.1 Настольный бокс с бактерицидной лампой («Biocom» или любой другой марки) либо стерильный ламинарный шкаф (Kojair KR-125 Safety или любой другой марки).

4.2 Твердотельный термостат для пробирок типа «Эппендорф» на 25 – 100 °С («Biocom» или любой другой марки).

4.3 Центрифуга-вортекс (любой марки).

4.4 Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 14 тыс. об/мин. (любой марки).

4.5 Вакуумный аспиратором с колбой-ловушкой (любой марки).

4.6 Набор автоматических дозаторов переменного объема («Ленпипет», «Socorex» либо любой другой марки).

4.7 Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 10 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл.

ВЕРНО
ведущий специалист
организационно-методического отдела
Махотина
2023

Для документов

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

4.8 Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема до 200 мкл и до 1000 мкл.

4.9 Стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

4.10 Штативы для наконечников, микропробирок (любой марки).

4.11 Холодильник на 2 – 8 ^{0}C, морозильник на минус 20^{0}C (любой марки).

4.12 Ёмкость для сброса наконечников.

5. ПРОЦЕДУРА ВЫДЕЛЕНИЕ НК

5.1 Перед проведением работ необходимо убедиться в том, что раствор для лизиса не содержит осадка. Если осадок обнаружен, то нужно добиться его полного растворения, нагревая раствор до 65-70°C. Отобрать и промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок (Эппендорф, 1,5 мл). Внести в каждую пробирку по 300 мкл раствора для лизиса, при необходимости добавить 10 мкл внутреннего контрольного образца (ВКО).

5.2 Добавить в пробирки, промаркированные соответствующим образом, по 100 мкл проб или контрольных образцов. Перемешать содержимое пробирок на вортексе, процентрифугировать в течение 5 с на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки и прогреть 5 мин при 65 °C в термостате.

5.3 Добавить в пробирки по 400 мкл раствора для преципитации, перемешать на вортексе и процентрифугировать пробирки в течение 5 мин при 13 тыс об/мин. Отобрать надосадочную жидкость, стараясь не задеть осадок. Отбор жидкости желательно производить вакуумным аспиратором, используя для каждой пробы отдельный наконечник.

5.4 Добавить в пробирки по 500 мкл промывочного раствора, плотно закрыть крышки, промыть осадок, осторожно встряхивая пробирки. Пробы процентрифугировать при 13 тыс об/мин в течение 1-2 мин на микроцентрифуге. Отобрать надосадочную жидкость, стараясь не задеть осадок.

5.5 Добавить в пробирки по 200 мкл промывочного раствора, повторить процедуру промывки. Пробы процентрифугировать при 13 тыс об/мин в течение 1-2 мин на микроцентрифуге. Отобрать надосадочную жидкость, стараясь не задеть осадок.

5.6 Удалить остатки промывочного раствора из пробы поместив пробирки с открытыми крышками в термостат при температуре 65 °C на 5 мин.

5.7 Добавить в пробирки по 50-90 мкл буфера дл растворения НК. Перемешать на вортексе. Поместить пробирки в термостат при температуре 65 °C на 5 мин, периодически встряхивая на вортексе.

5.8 Процентрифугировать пробирки при 13 тыс об/мин в течение 1 мин. Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК. Очищенные НК могут храниться до 24 ч при температуре от 2 до 8 °C и до года при температуре ре не выше минус 16 °C.

6. ФОРМА ВЫПУСКА

Набор «НК экстра» выпускается в виде комплекта 1 и комплекта 2, обеспечивающих проведение 50 и 100 выделений НК из биологического материала соответственно.

7. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

7.1 Транспортирование набора «НК экстра» должно производиться при температуре плюс (4±2)^{0}C.

7.2 Срок годности набора «НК экстра» – 12 месяцев с даты изготовления. Датой изготовления считают дату приемки ОБК изготовителя.

7.3 Хранение набора «НК экстра» должно производиться при температуре плюс (4±2)^{0}C на протяжении всего срока годности набора.

ВЕРНО
ведущий специалист
организационно-методического отдела
Махотина
18.04.2023

Для документов

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

8. УКАЗАНИЯ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ

Набор должен использоваться согласно Инструкции по применению, утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь.

9. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

9.1 Изготовитель гарантирует соответствие набора заявленным параметрам при соблюдении потребителем условий транспортирования и хранения, установленных ТУ на «НК экстра». Претензии по поводу ненадлежащего качества направлять изготовителю по адресу: 220114, Минск, ул. Филимонова, 23, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, тел. 268-82-18.

Разработчики:

Заведующий лабораторией биотехнологии и иммунодиагностики особо опасных инфекций, к.б.н. — П.А. Семижон

Ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии и иммунодиагностики особо опасных инфекций, к.б.н. — С.В. Ткачев

Ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии и иммунодиагностики особо опасных инфекций, к.б.н. — Е.Г. Фомина

Главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии и иммунодиагностики особо опасных инфекций, д.м.н. — А.С. Владыко

Для документов
ВЕРНО
ведущий специалист
организационно-методического отдела
Махоткина
18.04.2023

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