

УТВЕРЖДАЮ

Главный врач Государственного
учреждения «Республиканский центр
гигиены, эпидемиологии и
общественного здоровья»

А.Л. Скуранович

20 24 г.



**НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО ВЫДЕЛЕНИЯ
ДНК И РНК ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА
МЕТОДОМ ПРЕЦИПИТАЦИИ
«НК экстра»
инструкция по применению**

Минск, 2024г

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 («Biosom» 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 («Biosom» 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.

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 °С, морозильник на минус 20°С (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°С. Отобрать и промаркировать необходимое количество одноразовых пробирок (Эшпендорф, 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, центрифугировать в течение 5 с на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки и прогреть 5 мин при 65 °С в термостате.

5.3 Добавить в пробирки по 400 мкл раствора для преципитации, перемешать на вортексе и центрифугировать 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 центрифугировать 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 центрифугировать 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 °С на 5 мин.

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

5.8 Центрифугировать 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 °С и до года при температуре не выше минус 16 °С.

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)°С.

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)°С на протяжении всего срока годности набора.

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, ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», тел. 392-74-43.

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.



Е.П. Счесленок

Заведующий лабораторией иммунологии и
клеточной биотехнологии, д.б.н.



Е.Г. Фомина

Младший научный сотрудник лаборатории
биотехнологии и иммунодиагностики особо
опасных инфекций



Ю.В. Малиновская