


УТВЕРЖДЕНА  
Приказом Росздравнадзора  
от 15.09.2008 № 7418-Пр/08

«УТВЕРЖДАЮ»  
Директор Федерального  
государственного учреждения  
науки «Центральный научно-  
исследовательский институт  
эпидемиологии» Федеральной  
службы по надзору в сфере защиты  
прав потребителей и благополучия  
человека  
  
В.И. Покровский  
«20» сентября 2008 г.

## **ИНСТРУКЦИЯ**

по применению комплекта реагентов  
для первого этапа выделения РНК  
из биологического материала

**«РИБО-золь-С»**

## ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ.

Комплект реагентов выпускается в 2 формах комплектации:

**Форма 1** включает комплект реагентов «РИБО-золь-С» вариант 50.

**Форма 2** включает комплект реагентов «РИБО-золь-С» вариант 100.

## СОСТАВ.

Комплект реагентов «РИБО-золь-С» вариант 50 или вариант 100 – комплект реагентов для первого этапа выделения РНК из биологического материала **включает:**

Реактив	Описание	Вариант 50		Вариант 100	
		Объём (мл)	Кол-во	Объём (мл)	Кол-во
Раствор D	Прозрачная бесцветная жидкость	20	1 флакон	40	1 флакон
Раствор E	Прозрачная бесцветная жидкость	1,5	1 пробирка	1,5	2 пробирки
Раствор A	Прозрачная желтая жидкость	15	1 флакон	30	1 флакон
Раствор B	Прозрачная бесцветная жидкость	5,0	1 пробирка	5,0	2 пробирки

Комплект реагентов вариант 50 рассчитан на выделение РНК из 50 проб, включая контроли.

Комплект реагентов вариант 100 рассчитан на выделение РНК из 100 проб, включая контроли.

## НАЗНАЧЕНИЕ.

Комплект реагентов «РИБО-золь-С» предназначен для первого этапа выделения тотальной РНК из биологического материала с последующей очисткой и концентрацией РНК с использованием сорбционной или преципитирующей методик для дальнейшего анализа методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции.

## ВЗЯТИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА.

### ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ ПРОБ.

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», подготовленными ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2007 г.

## **МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.**

Необходимо строго соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы здравоохранения СССР», Москва, 1981 г.

Работать только в одноразовых перчатках, использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с аэрозольным барьером. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий 0,2 % раствор ДП-2Т.

## **ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, ТРЕБУЕМЫЕ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ РНК ИЗ ПРОБ.**

**(с указанием фирм-производителей / поставщиков):**

1. Ламинарный бокс (например, «БАВп-01-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия, класс биологической безопасности II тип А).
2. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» от 25 до 100 °С (например, «ТЕРМО 24-15», «Биоком», Россия).
3. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16 тыс об/мин (например, «MiniSpin», «Eppendorf», Германия).
4. Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
5. Набор электронных или механических дозаторов переменного объема (например, «Ленпипет», Россия).
6. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся микропробирки объемом 1,5 мл (например, «Ахуген», США).
7. Штативы для микропробирок объемом 1,5 мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия) и наконечников (например, «Ахуген», США).
8. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 200 мкл и до 1000 мкл (например, «Ахуген», США).
9. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.

10. Отдельный халат и одноразовые перчатки.

11. Емкость с дезинфицирующим раствором.

**ВНИМАНИЕ!** При работе с РНК необходимо использовать только одноразовые стерильные пластиковые расходные материалы, имеющие специальную маркировку «RNase-free», «DNase-free».

### **ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.**

1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный и положительный контроли выделения). Внести в каждую пробирку по **10 мкл ВКО**, затем добавить по **300 мкл раствора D**. Промаркировать пробирки.
2. В пробирки с раствором D и ВКО добавить по **100 мкл подготовленных проб**, используя наконечники с аэрозольным барьером.
3. В пробирку отрицательного контроля (ОК) выделения внести **100 мкл ОКО**. В пробирку положительного контроля (ПК) выделения внести **80 мкл ОКО** и **10 мкл ПКО**.
4. Плотно закрытые пробы тщательно перемешать на вортексе и прогреть при температуре 56 °С в течение 5 мин, несколько раз встряхивая пробы на вортексе. Затем необходимо центрифугировать в течение 5 с при 10 тыс об/мин на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки пробирки.
5. Добавить к образцам, лизированным в растворе D, **30 мкл раствора E**, перемешать на вортексе и центрифугировать 5 с при 10 тыс об/мин.
6. В эти же пробирки добавить **300 мкл раствора A**, перемешать на вортексе и центрифугировать 5 с при 10 тыс об/мин.
7. В эти же пробирки внести **100 мкл раствора B**, перемешать на вортексе в течение 1-2 мин (раствор должен стать молочно-белым), затем поместить пробы на ледяную баню (температура от 0 до 4 °С) на 10 мин. После этого центрифугировать пробирки в течение 10 мин при 13 тыс об/мин.
8. После центрифугирования раствор долженделиться на 2 фазы: нижнюю (фенольную), содержащую белки и ДНК, и

верхнюю (водную), содержащую РНК. Возможно образование интерфазы. Необходимо аккуратно отобрать верхнюю фазу (приблизительно 400 мкл), не захватывая нижний слой, и интерфазу, и перенести ее в чистую пробирку объемом 1,5 мл. Продолжить выделение РНК по инструкции к комплекту реагентов для второго этапа выделения, начиная с лизиса, с учетом того, что внутренний контрольный образец уже был внесен на первом этапе выделения РНК.

### **ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ.**

Обеззараживание биоматериала и реагентов следует проводить на каждой стадии отдельно, помещая одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники), колбы-ловушки вакуумных отсасывателей на 20-24 ч в специальные контейнеры, содержащие дезинфицирующий 0,2 % раствор ДП-2Т.

### **СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ.**

**Срок годности.** 9 мес. Комплект реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

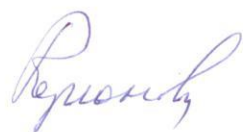
**Транспортирование.** Комплект реагентов транспортировать при температуре от 2 до 8 °С не более 5 сут.

**Хранение.** Комплект реагентов хранить при температуре от 2 до 8 °С.

**Условия отпуска.** Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на качество комплекта реагентов «РИБО-золь-С» направлять в адрес ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора (119002, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел. (499) 241-39-22, факс (499) 241-92-38), в адрес предприятия-изготовителя ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а, тел. (495) 974-96-42, факс (495) 305-54-23, e-mail: [obtk@pcr.ru](mailto:obtk@pcr.ru)) и в адрес официального дилера – компанию ООО «ИнтерЛабСервис» (тел. (495) 925-05-54, факс (495) 916-18-18, e-mail: [products@pcr.ru](mailto:products@pcr.ru)).

Заведующий НПЛ  
ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора



Е.Н. Родионова

Руководитель Государственных испытаний  
Зав. лабораторией вирусных кишечных инфекций  
и молекулярной биологии ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора



Г.М.Игнатъев