

УТВЕРЖДЕНА  
Приказом Росздравнадзора  
от 31.12.08г. № 10895-12р/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

«04» 12 2008 г.

## ИНСТРУКЦИЯ

по применению комплекта реагентов  
для получения кДНК на матрице РНК

**«РЕВЕРТА-L»**

## ФОРМА КОМПЛЕКТАЦИИ.

Комплект реагентов выпускается в 4 формах комплектации:

**Форма 1** включает комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 50.

**Форма 2** включает комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 100.

**Форма 3** включает комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 2-50.

**Форма 4** включает комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 2-100.

## СОСТАВ.

**Комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 50 или вариант 100** – комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК **включает:**

Реактив	Описание	Вариант 50		Вариант 100	
		Объем (мл)	Кол-во	Объем (мл)	Кол-во
RT-G-mix-1	Прозрачная бесцветная жидкость	0,01	5 пробирок	0,01	10 пробирок
RT-mix	Прозрачная бесцветная жидкость	0,125	5 пробирок	0,125	10 пробирок
Ревертаза (MMiv)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,03	1 пробирка	0,06	1 пробирка
ДНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка	1,2	2 пробирки

Комплект реагентов вариант 50 рассчитан на проведение 60 реакций обратной транскрипции, включая контроли.

Комплект реагентов вариант 100 рассчитан на проведение 120 реакций обратной транскрипции, включая контроли.

**Комплект реагентов «РЕВЕРТА-L» вариант 2-50 или вариант 2-100** – комплект реагентов для получения кДНК на матрице РНК **включает:**

Реактив	Описание	Вариант 2-50		Вариант 2-100	
		Объем (мл)	Кол-во	Объем (мл)	Кол-во
RT-G-mix-2	Прозрачная бесцветная жидкость	0,01	5 пробирок	0,01	10 пробирок
RT-mix	Прозрачная бесцветная жидкость	0,125	5 пробирок	0,125	10 пробирок
Ревертаза (MMiv)	Прозрачная бесцветная жидкость	0,03	1 пробирка	0,06	1 пробирка
ДНК-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	1,2	1 пробирка	1,2	2 пробирки

Комплект реагентов вариант 2-50 рассчитан на проведение 60 реакций обратной транскрипции, включая контроли.

Комплект реагентов вариант 2-100 рассчитан на проведение 120 реакций обратной транскрипции, включая контроли.

## **НАЗНАЧЕНИЕ.**

Комплект реагентов **«РЕВЕРТА-L»** предназначен для получения кДНК на матрице РНК для последующего анализа методом полимеразной цепной реакции.

## **ВЗЯТИЕ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА. ХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ ПРОБ.**

Перед началом работы следует ознакомиться с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, 2008 г.

Материалом для исследования служит раствор РНК.

## **МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.**

1. 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.
2. Работать только в одноразовых перчатках, использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для дозаторов с аэрозольным барьером.
3. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий 0,2 % раствор ДП-2Т.
4. Все лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, штативы, лабораторная посуда, а также все рабочие растворы должны быть строго стационарными. Запрещается переносить их из одного помещения в другое.

## **ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, ТРЕБУЕМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ РЕАКЦИИ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ.**

**(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. Вортекс (например, «ТЭТА-2», «Биоком», Россия).
4. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 16 тыс g (например, «MiniSpin», «Eppendorf», Германия).
5. Набор электронных или механических дозаторов переменного объема (например, «Ленпипет», Россия).
6. Одноразовые полипропиленовые микропробирки объемом 0,2 (0,5) мл (например, «Ахуген», США).
7. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 200 мкл (например, «Ахуген», США).
8. Штативы для наконечников (например, «Ахуген», США) и микропробирок объемом 0,2 (0,5) мл (например, «ИнтерЛабСервис», Россия).
9. Холодильник с морозильной камерой не выше минус 16 °С.
10. Отдельный халат и одноразовые перчатки.
11. Емкость с дезинфицирующим раствором.

## **ПРОВЕДЕНИЕ РЕАКЦИИ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ.**

**(проводится в ЗОНЕ 2 - помещении для проведения ПЦР-амплификации).**

**Общий объем реакции – 20 мкл, объем РНК-пробы – 10 мкл.**

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

**ВНИМАНИЕ!** Объем добавляемых реагентов и порядок проведения реакции могут быть различными. Необходимо руководствоваться описанием проведения реакции обратной транскрипции, указанным в инструкции к набору

**реагентов для выявления РНК анализируемого возбудителя.**

**Порядок работы:**

1. Отобрать необходимое количество микропробирок объемом 0,2 (0,5) мл.
2. Приготовить реакционную смесь на 12 реакций. Для этого в пробирку с **RT-mix** внести **5 мкл RT-G-mix-1 (RT-G-mix-2)**, тщательно перемешать на вортексе, осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием.
3. К полученному раствору добавить **6 мкл ревертазы (MMiv)**, пипетировать 5 раз, перемешать на вортексе. Осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием.
4. Внести в микропробирки по **10 мкл** готовой реакционной смеси.
5. Используя наконечники с аэрозольным барьером, добавить по **10 мкл РНК-пробы** в пробирки с реакционной смесью. Осторожно перемешать пипетированием.
6. Поставить пробирки в амплификатор (термостат) с температурой 37 °С на 30 мин.
7. Полученную в реакции обратной транскрипции кДНК для последующей постановки ПЦР развести в 2 раза ДНК-буфером (к **20 мкл кДНК** отдельным наконечником с аэрозольным барьером добавить **20 мкл ДНК-буфера**, аккуратно перемешать пипетированием 10 раз).

**Готовый препарат кДНК можно хранить при температуре не выше минус 16 °С в течение 1 нед или при температуре не выше минус 68 °С в течение года.**

**ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ.**

Обеззараживание биоматериала и реагентов следует проводить, помещая одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) 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. При получении разукomплектовать в соответствии с указанными температурами хранения.

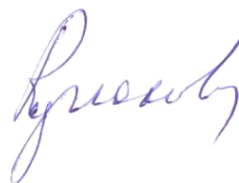
**Хранение.** Комплект реагентов хранить при температуре не выше минус 16 °С.

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

Рекламации на качество комплекта реагентов «**РЕВЕРТА-L**» 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