




Набор реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического материала животных и продуктов питания животного происхождения

## АмплиПрайм® РИБО-преп ВЕТ

### ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Форма 1: **REF** V106-1  50

Форма 2: **REF** V106-2  100

Только для ветеринарных и других немедицинских целей



ООО «НекстБио», Россия, 111394,  
г. Москва, ул. Полимерная, д. 8, стр. 2,  
тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru



---

## ОГЛАВЛЕНИЕ

---

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ .....	3
1. НАЗНАЧЕНИЕ .....	4
2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА .....	5
2.1. Состав и комплектность .....	5
2.2. Принцип метода .....	6
3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА .....	6
4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА .....	6
5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ.....	7
6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ .....	10
6.1. Взятие исследуемого материала.....	10
6.2. Предварительная обработка исследуемого материала .....	11
6.3. Для экстракции НК.....	14
7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ .....	15
7.1. Цельная кровь.....	16
7.2. Мазки из респираторного тракта, слюна.....	17
7.3. Мазки из урогенитального тракта.....	17
7.4. Моча.....	18
7.5. Помет птиц, фекалии, меконий.....	18
7.6. Ректальные мазки, мазки из клоаки.....	19
7.7. Содержимое желудка/брюшной полости.....	19
7.8. Асцитическая жидкость.....	20
7.9. Спинномозговая жидкость (ликвор).....	20
7.10. Содержимое бурс, гигром .....	20
7.11. Сперма .....	21
7.12. Яйца, куриные эмбрионы .....	21
7.13. Аллантаисная жидкость.....	21
7.14. Амниотическая жидкость.....	22
7.15. Молоко .....	22
7.16. Фрагменты тканей и органов (в том числе ушные выщипы).....	23
7.17. Смывы с объектов окружающей среды.....	23
7.18. Суспензии насекомых (комары, москиты, пчелы, мокрецы и другие), клещи (и другие животные типа Членистоногие) .....	23
7.19. Волосяные луковицы.....	24
7.20. Перья птиц.....	24
7.21. Продукты питания животного происхождения и корма.....	25
7.22. Культуры клеток.....	25
7.23. ФТА-карты.....	25
8. ЭКСТРАКЦИЯ НК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА .....	26
8.1. Методика экстракции НК .....	26
8.2. Хранение очищенных НК .....	27
9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА .....	28
9.1. Срок годности .....	28
9.2. Транспортирование .....	28
9.3. Хранение .....	28
10. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ .....	28
11. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	29

---

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

---

ВКО	внутренний контрольный образец
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	дезоксирибонуклеаза
НК	нуклеиновые кислоты
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПК	положительный контроль
ПЦР	полимеразная цепная реакция
ПКО	положительный контрольный образец
РНК	рибонуклеиновая кислота
РНКаза	рибонуклеаза

---

## НАИМЕНОВАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

---

Набор реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического материала животных и продуктов питания животного происхождения «АмплиПрайм® РИБО-преп ВЕТ».

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «АмплиПрайм® РИБО-преп ВЕТ», а также сокращение Набор реагентов.

---

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ

---

Набор реагентов «АмплиПрайм® РИБО-преп ВЕТ» (далее по тексту – набор) предназначен для экстракции ДНК/РНК из биологического материала животных и продуктов питания животного происхождения, перечисленных ниже, для последующего исследования методом полимеразной цепной реакции (ПЦР):

- цельная кровь, плазма крови, лейкоциты крови;
- сыворотка крови;
- мазки из респираторного тракта, слюна;
- мазки/соскобы из урогенитального тракта;
- моча;
- фекалии, помет птиц, меконий;
- ректальные мазки, мазки из клоаки;
- содержимое желудка / брюшной полости;
- асцитическая жидкость;
- спинномозговая жидкость (ликвор);
- содержимое бурс, гигром;
- сперма;
- яйца, куриные эмбрионы;
- аллантаисная жидкость;
- амниотическая жидкость;
- молоко;
- фрагменты тканей и органов (в том числе ушные выщипы);
- смывы с объектов окружающей среды;
- суспензии насекомых (пчелы, москиты, мокрецы и другие), клещи (и другие животные типа Членистоногие);
- волосяные луковицы;
- перья птиц;
- продукты питания животного происхождения и корма (кормовые добавки, комбикорма, текстураты, мясокостная мука, консервы);
- культуры клеток (бактериальные культуры клеток или культуры микроорганизмов, культуры клеток животных);
- ФТА-карты.

## 2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

### 2.1. Состав и комплектность








Набор выпускается в двух формах (состав форм и комплектность поставки указаны в таблицах 1 и 2):

**Форма 1** рассчитана для экстракции НК из 50 образцов, включая контроли.

**Форма 2** рассчитана для экстракции НК из 100 образцов, включая контроли.

Таблица 1

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
<b>Форма выпуска 1</b>			
<b>Раствор для лизиса<sup>1</sup></b>  Опасно	16,0	1 флакон	Раствор для лизиса. Прозрачная жидкость голубого цвета <sup>2</sup> .
<b>Раствор для преципитации<sup>2</sup></b>  Опасно	21,0	1 флакон	Раствор для преципитации. Прозрачная жидкость.
<b>Раствор для отмывки 3<sup>2</sup></b>  Опасно	26,0	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
<b>Раствор для отмывки 4<sup>2</sup></b>  Опасно	12,0	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
<b>РНК-буфер</b>	1,30	4 пробирки	РНК-буфер. Прозрачная жидкость.
<b>ВКО В</b>	1,10	1 пробирка	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
<b>ОКО</b>	1,10	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
<b>Форма выпуска 2</b>			
<b>Раствор для лизиса<sup>2</sup></b>  Опасно	31,0	1 флакон	Раствор для лизиса. Прозрачная жидкость голубого цвета <sup>3</sup> .
<b>Раствор для преципитации<sup>2</sup></b>  Опасно	41,0	1 флакон	Раствор для преципитации. Прозрачная жидкость.
<b>Раствор для отмывки 3<sup>2</sup></b>  Опасно	51,0	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.

<sup>1</sup> Реагенты содержат опасные вещества. Информацию по опасным веществам и мерам предосторожности при работе с реагентами см. в разделе инструкции «Меры предосторожности и предупреждения».

<sup>2</sup> При хранении Раствора для лизиса возможно образование осадка в виде кристаллов.

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
<b>Раствор для отмывки 4<sup>2</sup></b>  Опасно	22,0	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
<b>РНК-буфер</b>	1,30	8 пробирок	РНК-буфер. Прозрачная жидкость.
<b>ВКО В</b>	1,10	2 пробирки	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
<b>ОКО</b>	1,10	2 пробирки	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.

Таблица 2

### Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Набор реагентов (форма выпуска 1 или 2)	–	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: <a href="http://www.nextbio.ru/reagents/">http://www.nextbio.ru/reagents/</a>	1
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: <a href="http://www.nextbio.ru/passport/">http://www.nextbio.ru/passport/</a>	1

## 2.2. Принцип метода

Принцип действия основан на лизисе клеток и денатурации клеточных белков с помощью раствора для лизиса, содержащего хаотропный агент (гуанидин тиоцианат), с последующим осаждением нуклеиновых кислот изопропанолом и дальнейшей экстракцией их в раствор.

## 3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с ISO 13485-сертифицированной Системой Менеджмента Качества компании ООО «НекстБио», каждая серия набора реагентов «АмплиПрайм® РИБО-преп ВЕТ» проверяется на соответствие заранее определенным спецификациям для обеспечения постоянного качества продукции.

## 4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

4.1. Набор применяется только для ветеринарных и других немедицинских целей.

4.2. Набор предназначен для экстракции ДНК/РНК только из биологического материала и продуктов питания животного происхождения, а также кормов, указанных в разделе «Назначение». Применение набора для выделения НК из другого вида материала не гарантирует высокой эффективности действия методики, лежащей в основе работы набора, и может привести к получению недостоверного результата.

4.3. Необходимо соблюдать требования к взятию, транспортированию, подготовке и хранению образцов исследуемого материала, указанные в разделе «Исследуемый материал». Невыполнение данных требований может повлиять на эффективность экстракции НК.

4.4. Применение набора возможно только персоналом, обученным правилам работы в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические исследования.

## 5. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

5.1. Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические исследования биологического материала на наличие возбудителей инфекционных болезней, а также определения видового состава пищевого сырья и продуктов питания с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней», СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

5.2. При работе необходимо всегда выполнять следующие требования:

– Применять набор строго по назначению в соответствии с данной инструкцией. Отклонение от прописанных процедур и порядка действий может привести к получению недостоверных результатов анализа.

– Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ следует проводить в отдельных помещениях (зонах) в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.

– Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с СП 1.3.2322-08.

– Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СП 1.3.2322-08.

– Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.

– Использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с фильтром<sup>3</sup>. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания отходов.

– Набор предназначен для однократного применения при проведении экстракции ДНК/РНК из указанного количества образцов (см. раздел «Состав и комплектность»).

– К работе с набором допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические исследования в установленном порядке (в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08).

– Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.

– Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.

– Не смешивать реагенты из разных серий набора.

– Не использовать набор по истечении срока годности.

<sup>3</sup> Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции используются одноразовые наконечники без фильтра.

– Использовать одноразовые неопудренные перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Тщательно вымыть руки по окончании работы. Все операции проводятся только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.

– Не есть, не пить и не курить в процессе использования набора. Избегать вдыхания паров, контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой.

– При контакте с РНК-буфером, ВКО В и ОКО немедленно промыть пораженное место большим количеством воды и при плохом самочувствии обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь, рвоту не вызывать, прополоскать рот водой, обратиться к врачу при плохом самочувствии.

– Входящие в состав набора реагенты Раствор для лизиса, Раствор для преципитации, Раствор для отмывки 3 и Раствор для отмывки 4 содержат опасные вещества, указанные в таблице 3. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данными реагентами, приведены в таблице 3. Расшифровка кодов заявлений об опасности и мер предосторожности представлена в таблице 4.

Таблица 3

### Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с реагентами

Реагент	Опасные вещества	Заявления об опасности	Меры предосторожности
Раствор для лизиса	гуанидин тиоцианат, тритон X-100, 1-тиоглицерол	H302, H312, H332, H412, EUH032	P260, P264, P270, P271, P273, P280, P301 + P312, P302+P352, P304+P340, P312, P322, P330, P363, P501
Раствор для преципитации	изопропанол	H225, H319, H336	P210, P233, P240, P241, P242, P243, P261, P264, P271, P280, P303 + P361 + P353, P304+P340, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403 + P235, P501
Раствор для отмывки 3	изопропанол	H225, H319, H336	P210, P233, P240, P241, P242, P243, P261, P264, P271, P280, P303 + P361 + P353, P304+P340, P305+P351+P338, P337+P313, P370+P378, P403 + P235, P501
Раствор для отмывки 4	изопропанол	H225, H319, H336	P210, P233, P240, P241, P242, P243, P261, P264, P271, P280, P303 + P361 + P353, P304+P340, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403 + P235, P501



### Расшифровка кодов заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар. H302: Вредно при проглатывании. H312: Вредно при контакте с кожей. H319: Вызывает серьезное раздражение глаз. H332: Вредно при вдыхании.	H336: Может вызывать вялость или сонливость. H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUN032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
Меры предосторожности	
P210: Хранить вдали от источников тепла, горячих поверхностей, искр, открытого пламени и других источников воспламенения. Не курить. P233: Хранить в плотно закрытой таре. P240: Заземлить / соединить контейнер и приемное оборудование. P241: Использовать взрывобезопасное электрическое оборудование. P242: Используйте только не искрящие инструменты. P243: Применять меры предосторожности против статического разряда. P260: Не вдыхать пары. P261: Избегать вдыхания паров. P264: Вымойте руки после работы тщательно. P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта. P271: Используйте только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Пользоваться защитными перчатками и средствами защиты глаз. P301+P312: При проглатывании: обратиться к врачу при плохом самочувствии. P302+P352: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ: Промыть большим количеством воды. P304+P340: При вдыхании: Вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить удобство дыхания.	P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой или принять душ. P305+P351+P338: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: Осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. При наличии контактных линз снять их и продолжить промывание водой. P312: Обратиться к врачу при плохом самочувствии. P322: Специальные меры (см. острая токсичность при попадании на кожу в Листе Безопасности реагента Раствор для лизиса). P330: Прополоскать рот. P363: Загрязненную одежду выстирать перед повторным использованием. P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией. P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения. P403+P235: Хранить в прохладном, хорошо вентилируемом месте. P501: Утилизировать содержимое в соответствии с национальными правилами СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

– Входящие в состав набора РНК-буфер, ОКО и ВКО В содержат натрия азид в концентрации не более 0,1 % и соответственно не классифицируются как опасные и не требуют соблюдения специальных мер предосторожности.

– Листы безопасности реагентов, входящих в состав набора, доступны по запросу.

– Использование набора по назначению и соблюдение вышеперечисленных мер предосторожности исключает негативное воздействие на организм человека. При аварийных ситуациях возможно причинение вреда при попадании на кожу и слизистую оболочку глаз, при вдыхании и при проглатывании.

5.3. Специфические воздействия набора на организм человека:

- Канцерогенный эффект отсутствует;
- Мутагенное действие отсутствует;
- Репродуктивная токсичность отсутствует.

---

## **6. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

---

### **6.1. Взятие исследуемого материала**

6.1.1. Зонд для взятия биологического материала с поверхности слизистых оболочек респираторного, уrogenитального тракта, прямой кишки, однократного применения, стерильный.

6.1.2. Транспортная среда для взятия, транспортирования и хранения биологического материала (мазки из респираторного, уrogenитального тракта, прямой кишки, клоаки), содержащая консервант.

6.1.3. Стерильный ватный зонд и транспортная среда для взятия смывов с объектов окружающей среды.

6.1.4. Вакуумные пробирки для забора крови, содержащие ЭДТА или цитрат натрия. Недопустимо использовать пробирки, содержащие гепарин!

6.1.5. Вакуумные пробирки с активатором свертывания крови.

6.1.6. Двухсторонняя игла для забора крови в вакуумную пробирку.

6.1.7. Емкость для взятия, транспортирования и хранения биологического материала (слюны, молока, мочи, фекалий, помета птиц, асцитической жидкости, ликвора, спермы, фрагментов тканей и органов, содержимого желудка/брюшной полости), однократного применения, стерильная.

6.1.8. Вербочный жгут для отбора проб слюны сельскохозяйственных животных.

6.1.9. Контейнеры для отбора, транспортирования и хранения продуктов питания и корма, однократного применения.

6.1.10. Стерильный одноразовый шприц для взятия, транспортирования и хранения асцитической жидкости, ликвора, содержимого бурс, гигром, аллантоисной жидкости, амниотической жидкости.

6.1.11. Одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2 мл для ликвора, содержимого гигром, бурс, спермы.

6.1.12. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром, до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл.

6.1.13. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.1.14. Щипцы для проведения выщипа на ушах сельскохозяйственных животных.

6.1.15. Шпатель, пинцет для отбора проб продуктов питания.

6.1.16. Стерильные ватные тампоны в индивидуальных контейнерах.

6.1.17. Одноразовый шпатель/лопатка для взятия фекалий.

6.1.18. Бактериологическая петля.

6.1.19. Чистый бумажный конверт или пакет с застежкой Zip-Lock для волосяных луковиц, перьев птиц.

6.1.20. ФТА-карты.

6.1.21. Ножницы, скальпели, пинцеты.

6.1.22. Одноразовые перчатки.

## **6.2. Предварительная обработка исследуемого материала**

### **6.2.1. Предварительная обработка крови для получения лейкоцитарной массы, плазмы, сыворотки крови**

6.2.1.1. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.1.2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.1.3. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.1.4. Автоматический дозатор переменного объема на 1000 мкл.

### **6.2.2. Предварительная обработка мочи**

6.2.2.1. Вакуумные пробирки для забора мочи с консервантом, стерильные контейнеры.

6.2.2.2. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 мл.

6.2.2.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.2.4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 200 мкл.

6.2.2.5. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10 000 g.

6.2.2.6. Вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.

6.2.2.7. Вортекс.

6.2.2.8. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

### **6.2.3. Предварительная обработка фекалий, помета птиц, мекония**

6.2.3.1.1. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.3.1.2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 200 мкл (для жидких фекалий) или одноразовая лопатка (для твердых фекалий).

6.2.3.1.3. Фосфатный буфер или стерильный изотонический раствор натрия хлорида.

6.2.3.1.4. Глицерин 10–15 % (при необходимости длительного хранения).

6.2.3.1.5. Автоматический дозатор переменного объема на 200 мкл.

6.2.3.1.6. Вортекс.

### **6.2.4. Предварительная обработка содержимого желудка/брюшной полости**

6.2.4.1. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.4.2. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.4.3. Фосфатный буфер или физиологический раствор.

6.2.4.4. Автоматический дозатор переменного объема на 1000 мкл.

6.2.4.5. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл.

### **6.2.5. Предварительная обработка спермы**

6.2.5.1. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.5.2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.5.3. Транспортная среда.

6.2.5.4. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

6.2.5.5. Вортекс.

### **6.2.6. Предварительная обработка яиц, куриных эмбрионов**

6.2.6.1. Одноразовая полипропиленовая пробирка объемом 15 мл.

6.2.6.2. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.6.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.6.4. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.6.5. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

### **6.2.7. Предварительная обработка аллантоисной жидкости**

6.2.7.1. Стерильный одноразовый шприц для взятия, транспортирования и хранения аллантоисной жидкости.

6.2.7.2. Одноразовая полипропиленовая пробирка объемом 15 мл.

6.2.7.3. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.7.4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.7.5. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.7.6. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

### **6.2.8. Предварительная обработка амниотической жидкости**

6.2.8.1. Одноразовая полипропиленовая пробирка объемом 15 мл.

6.2.8.2. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.8.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.8.4. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.8.5. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

### **6.2.9. Предварительная обработка молока**

6.2.9.1. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.9.2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.9.3. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.9.4. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

6.2.9.5. 0,9 % фосфатный буферный раствор хлорида натрия.

### **6.2.10. Предварительная обработка фрагментов тканей и органов**

6.2.10.1. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.10.2. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.10.3. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.10.4. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

6.2.10.5. Фарфоровые ступки и песты или автоматический гомогенизатор.

6.2.10.6. Физиологический раствор или фосфатно-солевой буфер.

6.2.10.7. Термостат.

6.2.10.8. Вортекс.

### **6.2.11. Предварительная обработка насекомых (пчелы, москиты, мокрецы и другие), клещей (и других животных типа Членистоногие)**

6.2.11.1. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.11.2. Фосфатно-солевой буфер.

6.2.11.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.11.4. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.11.5. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

6.2.11.6. Фарфоровые ступки и песты или автоматический гомогенизатор.

6.2.11.7. Диэтиловый эфир.

6.2.11.8. Ватно-марлевая пробка.

6.2.11.9. Этанол 96%.

6.2.11.10. Вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой.

6.2.11.11. 0,15 M раствор хлорида натрия.

6.2.11.12. Вортекс.

### **6.2.12. Предварительная обработка продуктов питания животного происхождения и кормов**

6.2.12.1. Микроцентрифужные одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.2.12.2. Ступка с пестиком.

6.2.12.3. Фосфатный буфер, или физиологический раствор, либо дистиллированная вода.

6.2.12.4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.12.5. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

6.2.12.6. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

6.2.12.7. Вортекс.

### **6.2.13. Предварительная обработка исследуемого материала, полученного с поверхности ФГА-карты**

6.2.13.1. Фосфатный буфер, или физиологический раствор, либо дистиллированная вода.

6.2.13.2. Вортекс.

6.2.13.3. Автоматические дозаторы переменного объема до 1000 мкл.

6.2.13.4. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с фильтром до 1000 мкл.

6.2.13.5. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 1 600 g.

### **6.3. Для экстракции НК**

6.3.1. Одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 1,5 мл, свободные от ДНКаз и РНКаз.

6.3.2. Одноразовые наконечники, свободные от ДНКаз и РНКаз, для дозаторов переменного объема с фильтром до 100 мкл, до 200 мкл и до 1000 мкл.

6.3.3. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема без фильтра до 10 мкл, 200 мкл.

6.3.4. Штативы для пробирок объемом 1,5 мл.

6.3.5. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 13 тыс. об/мин.

6.3.6. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.3.7. Вортекс.

6.3.8. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева не менее чем до 65 °С.

6.3.9. Вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.

6.3.10. Автоматические дозаторы переменного объема.

6.3.11. Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой не выше минус 16 °С.

6.3.12. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.

6.3.13. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

---

## 7. ИССЛЕДУЕМЫЙ МАТЕРИАЛ

---

Материалом для исследования служат:

- цельная кровь, плазма крови, лейкоциты крови;
- сыворотка крови;
- мазки из респираторного тракта, слюна;
- мазки/соскобы из урогенитального тракта;
- моча;
- фекалии, помет птиц, меконий;
- ректальные мазки, мазки из клоаки;
- содержимое желудка / брюшной полости;
- асцитическая жидкость;
- спинномозговая жидкость (ликвор);
- содержимое бурс, гигром;
- сперма;
- яйца, куриные эмбрионы;
- аллантоисная жидкость;
- амниотическая жидкость;
- молоко;
- фрагменты тканей и органов (в том числе ушные выщипы);
- смывы с объектов окружающей среды;
- суспензии насекомых (пчелы, москиты, мокрецы и другие), клещи (и другие животные типа Членистоногие);
- волосяные луковицы;
- перья птиц;
- продукты питания животного происхождения и корма (кормовые добавки, комбикорма, текстураты, мясокостная мука);
- культуры клеток (бактериальные культуры клеток или культуры микроорганизмов, культуры клеток животных);
- ФТА-карты.

Взятие, предварительную обработку, транспортирование и хранение исследуемого биологического материала следует проводить в соответствии с нижеперечисленными требованиями, несоблюдение которых может привести к получению некорректных результатов исследования.

## **7.1. Цельная кровь**

### **7.1.1. Взятие материала**

Взятие венозной крови проводится после длительного голодания (не менее 6 часов) в пробирку с антикоагулянтом (раствором ЭДТА или цитрата натрия), либо с активатором свертывания крови.

Для тщательного перемешивания крови с антикоагулянтом необходимо несколько раз перевернуть пробирку.

Пробирку с активатором свертывания крови не переворачивают, оставляют для образования сгустка.

Допускается хранение образцов цельной крови до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 6 часов с момента получения материала;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 2 суток.

**ВНИМАНИЕ!** Недопустимо замораживание образцов цельной крови.

### **7.1.2. Предварительная обработка для получения лейкоцитарной массы**

Пробирки с цельной кровью центрифугировать при 800 – 1600g (3000 об/мин) в течение 20 мин. при комнатной температуре. После удаления плазмы, используя наконечник с фильтром, аккуратно собрать клетки крови (лейкоцитарную массу) с поверхности осадка в объеме 200 мкл и перенести в стерильную пробирку объемом 1,5 – 2,0 мл.

Допускается длительное хранение образцов лейкоцитарной массы до проведения ПЦР-исследования при температуре не выше минус 68 °С.

### **7.1.3. Предварительная обработка для получения плазмы**

Пробирки с цельной кровью центрифугировать 20 минут при 800 – 1600g (3000 об/мин) при комнатной температуре. Затем отобрать плазму в количестве не менее 1 мл с использованием отдельного для каждого образца наконечника с фильтром в стерильные пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

Допускается хранение образцов плазмы крови до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

### **7.1.4. Предварительная обработка для получения сыворотки**

Пробирки с цельной кровью без антикоагулянта отстаивают при комнатной температуре в течение 30 минут до полного образования сгустка, затем центрифугируют 10 минут при 800–1600 g (3000 об./мин). Полученную сыворотку отбирают в количестве не менее 1 мл с использованием отдельного для каждого образца наконечника с фильтром в стерильные пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

Допускается хранение образцов сыворотки крови до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.



## **7.2. Мазки из респираторного тракта, слюна**

Взятие материала со слизистых респираторного тракта проводится из полости носа, с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки с помощью стерильного зонда-тампона в пробирку с транспортной средой, при необходимости предварительно обработав места поражения от гноя марлевым тампоном.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде.

Слюну отбирают не менее 1 мл в одноразовую стерильную пробирку объемом 2,0 мл, либо в контейнер с завинчивающейся крышкой без транспортной среды.

Допускается хранение образцов мазков и слюны до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре минус 20 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

## **7.3. Мазки из урогенитального тракта**

### **7.3.1. Мазки со слизистой оболочки влагалища**

Взятие материала провести из заднебокового свода влагалища с помощью стерильного одноразового зонда-тампона или универсального зонда в пробирку с транспортной средой. Необходимо максимально полно собрать отделяемое. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде слизи и крови.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

### **7.3.2. Соскобы эпителия со слизистой оболочки цервикального канала**

Перед получением материала слизь и отделяемое влагалища с поверхности шейки матки удалить стерильным марлевым тампоном.

Взятие материала провести из цервикального канала с помощью стерильной одноразовой цервикальной цитощетки или универсального зонда в пробирку с транспортной средой. При использовании универсального зонда объем соскобного отделяемого будет меньше. Допустимо минимальное присутствие примесей в виде цервикальной слизи и крови.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

### **7.3.3. Соскобы эпителия со слизистой оболочки препуция**

Отделяемое берут после тщательного туалета наружных половых органов (обмывание теплой водой с мылом и обсушивание) стерильным ватным зондом. Аккуратно вводят стерильный ватный зонд в полость препуция и круговыми вращениями вокруг полового члена берут материал.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

## **7.4. Моча**

### **7.4.1. Порядок сбора**

Мочу получают во время мочеиспускания, надавливанием на мочевой пузырь, путем катетеризации, а также с помощью пункции мочевого пузыря (уроцистоцентез). Мочу после сбора отстаивают в течение 1 часа, затем осторожно сливают, оставляя придонную часть с осадком – около 10 мл.

В случае если сбор мочи осуществляется в емкость без реагентов для консервации и стабилизации, допускается хранение и транспортирование образцов мочи до проведения предобработки:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

При осуществлении сбора мочи в емкость с транспортной средой или реагентами для консервации и стабилизации, хранение образцов мочи до проведения предобработки проводить согласно инструкции к используемой емкости для сбора.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

### **7.4.2. Предварительная обработка**

Флакон с мочой взболтать. Перенести 1 мл мочи, используя наконечник с фильтром, в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. Центрифугируют 5 мин при 10 000 g. При наличии большого количества солей ресуспендировать только верхний слой осадка солей в объеме 1 мл физиологического раствора стерильного или транспортной среды и затем снова концентрировать. Используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, полностью удалить супернатант, используя для каждого образца отдельный наконечник без фильтра, не захватывая осадок. К осадку добавить 200 мкл физиологического раствора стерильного или транспортную среду в объеме, указанном в инструкции по ее применению. Тщательно перемешать содержимое на вортексе.

Условия хранения предварительно обработанных проб аналогичны условиям хранения материала до предобработки.

## **7.5. Помет птиц, фекалии, меконий**

### **7.5.1. Взятие материала**

Использовать пробы фекалий (помет), мекония массой (объемом) примерно 1–3 г (1–3 мл). Перенести пробу в количестве 1 г (1 мл) отдельным наконечником с фильтром или одноразовым шпателем в стерильный контейнер.

Условия хранения и перевозки образцов:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток.

## **7.5.2. Предварительная обработка**

При исследовании нативных фекалий (помета) без предшествующего замораживания готовят фекальную суспензию (при водянистой консистенции фекалий приготовление суспензии не требуется).

При исследовании нативного мекония без предшествующего замораживания готовят его суспензию (при водянистой консистенции мекония приготовление суспензии не требуется). В пробирку объемом 1,5 мл, содержащую 0,8 мл фосфатного буфера (или стерильного изотонического раствора хлорида натрия), отдельным наконечником с фильтром (или одноразовой лопаткой) вносят 0,1 г (0,1 мл) мекония и тщательно ресуспендируют на вортексе до образования гомогенной суспензии. При невозможности исследования материала в течение суток и/или необходимости длительного хранения, к приготовленной суспензии мекония добавляют глицерин в конечной концентрации 10-15%. После тщательной гомогенизации и экспозиции с глицерином в течение 30-40 минут пробы замораживают.

### **7.5.2.1. Приготовление фекальной суспензии**

В пробирку объемом 1,5 мл, содержащую 0,8 мл фосфатного буфера (или стерильного изотонического раствора натрия хлорида), отдельным наконечником с фильтром (или одноразовой лопаткой) внести 0,1 г (0,1 мл) фекалий (помета) и тщательно ресуспендировать на вортексе до образования гомогенной суспензии.

При невозможности исследования материала в течение суток и/или необходимости длительного хранения к приготовленной суспензии фекалий добавить глицерин в конечной концентрации 10–15 %. После тщательной гомогенизации и экспозиции с глицерином в течение 30 – 40 мин пробы заморозить.

Условия хранения предварительно обработанных проб:

- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 68 °С – длительно.

## **7.6. Ректальные мазки, мазки из клоаки**

Взятие материала провести путем введения зонда в задний проход (клоаку) на глубину 4 – 5 см, аккуратно вращая зонд вокруг оси, собрать материал на зонд, осторожно извлечь зонд. Перенести зонд в пробирку с транспортной средой.

Биологический материал, помещенный в транспортную среду, хранить и транспортировать согласно требованиям, указанным в инструкции к используемой транспортной среде. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

## **7.7. Содержимое желудка/брюшной полости**

### **7.7.1. Взятие материала**

Содержимое брюшной полости и желудка отбирают с помощью стерильного шприца с иглой большого диаметра в объеме 10 – 20 мл. Содержимое брюшной полости и желудка переносят в стерильные пластиковые пробирки или контейнеры.

Допускается хранение образцов до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре минус 20 °С – в течение 1 недели;

– при температуре минус 68 °С – длительно.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

### **7.7.2. Предварительная обработка**

Исследуемый материал в объеме 10 мл центрифугируют при 3 тыс. об./мин в течение 10-15 минут. При необходимости объем проб доводят до требуемого путем добавления физиологического раствора. Супернатант осторожно сливают, оставив над осадком примерно 0,2 мл жидкости. Если осадок практически не виден, то в эту же пробирку вносят еще 10 мл материала и повторяют центрифугирование. Осадок суспендируют в оставшейся надосадочной жидкости, переносят в пробирку типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл, и 100 мкл суспензии используют для экстракции ДНК.

### **7.8. Асцитическая жидкость**

Полученная при пункции жидкость отбирается в стерильный контейнер объемом 60 мл. При этом центрифугирование не требуется. Для исследования отбирают жидкость без сгустков.

Допускается хранение образцов жидкости до проведения ПЦР-исследования:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 месяца;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

### **7.9. Спинномозговая жидкость (ликвор)**

Спинномозговую жидкость (ликвор) собирают с помощью одноразовых игл в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл в количестве не менее 1,0 мл.

Допускается хранение образцов ликвора до проведения ПЦР-исследования:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 месяца;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

### **7.10. Содержимое бурс, гигром**

Забор содержимого гигром, бурс проводят стерильным шприцем с иглой большого диаметра. Делают пункцию, забирают содержимое гигромы (бурсы) и переносят его в стерильный контейнер либо пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл в количестве не менее 1,0 мл.

Допускается хранение образцов до проведения ПЦР-исследования:

- при комнатной температуре – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 месяца;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

## **7.11.Сперма**

### **7.11.1.Взятие материала**

Забор спермы осуществляется мануальным способом. Сперму отбирают в объеме 0,5 – 2,0 мл в стерильные пробирки. Для дальнейшего использования и сохранности биоматериала сперму охлаждают до 4 – 6°C.

Условия хранения и перевозки материала:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 2 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 68 °С – длительно.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

### **7.11.2.Предварительная обработка**

Непосредственно перед выделением нуклеиновых кислот, используя наконечник с фильтром, переносят 50 мкл спермы в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл и добавляют 150 мкл транспортной среды, тщательно перемешивают пробу на вортексе.

## **7.12.Яйца, куриные эмбрионы**

Отбор проб яиц проводят по ГОСТ 31654 и ГОСТ 31655. Отбор и подготовку лабораторных проб яичных продуктов проводят по ГОСТ 31720. Отбор проб проводят в чистую стеклянную или пластиковую посуду или одноразовые пластиковые пакеты.

### **7.12.1.Подготовка проб яиц**

Яйца в скорлупе разбивают и осторожно, не повреждая желток, отделяют основную массу яичного белка. Оставшиеся желтки тщательно перемешивают или гомогенизируют до однородной массы, не допуская вспенивания.

### **7.12.2.Подготовка проб жидких яичных продуктов**

Содержимое тары с лабораторной пробой или каждой из доставленной потребительской тары с продуктом тщательно перемешивают. Затем отбирают из разных мест лабораторной пробы по 1,0 мл продукта, переносят в одноразовую пластиковую пробирку вместимостью 15 мл и тщательно перемешивают, формируя объединенную пробу. Отбирают 1,0 мл объединенной пробы, помещают в одноразовую пластиковую пробирку объемом 1,5 или 2,0 мл, маркируют и хранят до и после проведения анализа.

## **7.13. Аллантаисная жидкость**

Для получения аллантаисной жидкости в скорлупе куриных эмбрионов прокалывают отверстие и отбирают стерильным шприцем в пробирку объемом 1,5 мл 1,0–1,5 мл аллантаисной жидкости.

Условия хранения и перевозки материала:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 2 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;

## **7.14. Амниотическая жидкость**

### **7.14.1. Взятие материала**

Амниотическую жидкость отбирают при помощи стерильного шприца. Исследуемую пробу в количестве 1 мл отдельным наконечником переносят в стерильную пробирку.

Образцы исследуемого материала хранят при следующих условиях:

- при температуре 2 – 8 °С – в течение 3 суток (цельную кровь допускается хранить при данной температуре в течение 7 суток);
- при температуре от минус 24 °С до минус 16 °С – в течение года;
- при температуре не выше минус 68 °С – длительно.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание исследуемых образцов биоматериала.

### **7.14.2. Предварительная обработка**

Исследуемый материал тщательно ресуспендируют на вортексе. Отбирают, используя наконечник с фильтром, 1 мл материала и переносят в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. Центрифугируют 10 минут при 10 тыс. g (например, 12 тыс. об./мин для микроцентрифуги MiniSpin). После проведения центрифугирования надосадочную жидкость аккуратно отбирают, используя наконечник с фильтром, оставляя над осадком 100 мкл жидкости, затем ресуспендируют материал на вортексе.

## **7.15. Молоко**

### **7.15.1. Взятие материала**

Молоко отбирают в объеме 30 – 50 мл в стерильную посуду.

Условия хранения и перевозки материала:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 2 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 68 °С – длительно.

### **7.15.2. Предварительная обработка**

Для исследования образцы концентрируют по одному из двух режимов:

- одномоментно при 6000 об/мин в течение  $18 \pm 2$  мин;
- дробно при 1000 об/мин в течение 5 мин для осаждения крупных частиц и при 6000 об/мин в течение 15 мин.

По окончании центрифугирования надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 5 мл 0,9%-ного фосфатного буферного раствора NaCl, ресуспендируют и отбирают 1 мл взвеси в пробирку типа «Эппендорф» вместимостью 1,5 мл (ГОСТ 57989 п.6.6.2). Подготовленные пробы хранению не подлежат.

## **7.16. Фрагменты тканей и органов (в том числе ушные выщипы)**

Кусочки паренхиматозных органов размером 1x1x1 см (печень, легкие, селезенка), трахея, воздухоносные мешки, миндалины, лимфатические узлы, кишечник, семенники с придатками, плацента, плодовые оболочки абортировавших животных, фрагменты пораженных кожных покровов отбирают в стерильные контейнеры.

Пробы тканей и органов гомогенизируют с использованием стерильных фарфоровых ступок и пестиков или автоматического гомогенизатора, затем готовят 10% суспензию, используя стерильный физиологический раствор или фосфатный буфер. Суспензию переносят в пробирку объемом 1,5 мл и центрифугируют при 400 г в течение 2 мин. Надосадочную жидкость используют для экстракции НК.

Ушные выщипы помещают каждый в пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл и проводят предварительный лизис тканей. Для этого в пробирку с ушным выщипом добавляют 500 мкл Раствора для лизиса и пробу переносят на 30 мин в термостат при температуре 60 °С, периодически тщательно встряхивая на центрифуге-вортексе каждые 10 мин. Для выделения используют супернатант, полученный при центрифугировании пробы при 12000 об/мин.

Условия хранения и перевозки материала:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 2 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 68 °С – длительно.

## **7.17. Смывы с объектов окружающей среды**

При взятии смывов с поверхности оборудования, приборов, инвентаря, расходных материалов, пользуются стерильными ватными зондами. Перед взятием смывов тампоны смачивают стерильным физиологическим раствором. После взятия смыва тампон погружают в емкость с физиологическим раствором. Записывается номер образца по порядку, место взятия смыва, техническое и санитарное состояние оборудования (приборы, поверхность и т. д.), с которого взят смыв, время забора.

Условия хранения и перевозки материала:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 68 °С – длительно.

## **7.18. Суспензии насекомых (комары, москиты, пчелы, мокрецы и другие), клещи (и другие животные типа Членистоногие)**

### **7.18.1. Взятие материала**

После взятия и доставки материала в лабораторию его обрабатывают диэтиловым эфиром до обездвижения, нанося каплю эфира на ватно-марлевую пробку. После определения вида и пола материал может быть объединен в пулы в зависимости от вида, пола, места и даты сбора и помещен в сухие чистые пробирки объемом 1,5 мл.

При исследовании на чуму в одну пробу включают по 20–30 (не более 50) блох или вшей. Из кровососущих двукрылых группируют пробы, включая в одну до 100 комаров, до 250 мошек и 20–25 слепней. При исследовании на арбовирусные инфекции комаров объединяют в пулы по 50–100 экземпляров. При необходимости проводят исследования отдельных особей.

### **7.18.2. Предварительная обработка проб**

Насекомых помещают в микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл, куда вносят 1 мл 96 %-го этанола, встряхивают на вортексе и центрифугируют в течение 3–5 с при 2000 g для удаления капель с крышки пробирки. С помощью вакуумного отсасывателя отдельными наконечниками для каждой пробы удаляют спирт из пробирки. Вносят в пробирку 1 мл 0,15 М раствора хлорида натрия, встряхивают пробирку и осаждают капли с крышки пробирки на микроцентрифуге в течение 3 – 5 с при 2000 g. С помощью вакуумного отсасывателя отдельными наконечниками для каждой пробы удаляют раствор хлорида натрия из пробирки.

Переносят насекомых в стерильную фарфоровую чашку или автоматический гомогенизатор, добавляют 0,7 – 1,0 мл 0,15 М раствора хлорида натрия и гомогенизируют пробу. Наконечником с фильтром переносят пробу в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл и центрифугируют при 1200 g в течение 2 мин для осветления пробы. РНК и ДНК выделяют из 0,1 мл надосадочной жидкости.

При выделении РНК и ДНК из комаров, блох и вшей используют данную методику обработки проб, за исключением этапов отмывки в 96 %-м этаноле и 0,15 М растворе хлорида натрия. Насекомых сразу гомогенизируют в стерильной ступке или в автоматическом гомогенизаторе в 0,15 М растворе хлорида натрия.

Условия хранения материала и предварительно обработанных проб:

- при температуре минус 20 °С – в течение 1 месяца.
- при температуре минус 70 °С – длительно.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

### **7.19. Волосяные луковицы**

При заборе материала важно, чтобы волос был вырван вместе с волосяной луковицей с поверхности кожи. В таком виде волосы транспортируются в чистом бумажном конверте, либо пакете с застежкой Zip-Lock.

Для проведения исследования промывают волос в деионизированной воде, стерильным скальпелем отрезают луковицу с фрагментом стержня длиной около 1 см и помещают образец в полипропиленовую пробирку объемом 1,5 мл.

Перевозка материала осуществляется без особых условий.

Условия хранения предварительно обработанных проб:

- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 68 °С – длительно.

### **7.20. Перья птиц**

Перо для исследования должно быть выдернуто (перья, выпавшие в результате линьки, не пригодны). Особенно много ДНК выделяется из молодых, растущих (“кровяных”) перьев. При отправке на анализ следует следить, чтобы не произошло загрязнения образца чужеродной ДНК, перья от разных птиц следует разложить в отдельные конверты и подписать их. В таком виде они могут сохраняться весьма долго при комнатной температуре. Таким образом, можно посылать образцы на довольно большое расстояние.

Для исследования используется фрагмент пера длиной 0,3 – 0,5 см.

Перевозка материала осуществляется без особых условий.

Условия хранения предварительно обработанных проб:



- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 суток;
- при температуре от минус 24 до минус 16 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 68 °С – длительно.

### **7.21. Продукты питания животного происхождения и корма**

Продукты животного происхождения (куски мяса, фарш, мясные полуфабрикаты и т.п.) отбирают в стерильные контейнеры. Отбор образцов продукции проводят по национальным стандартам, устанавливающим порядок отбора проб для однородных групп сырья, пищевых продуктов и кормов.

Навеску исследуемых образцов массой не менее 100 мг растирают пестиком в ступке до гомогенного состояния, используя фосфатный буфер или физиологический раствор. Гомогенизацию образцов плотных продуктов рекомендуется проводить с использованием автоматических гомогенизаторов и сопутствующих расходных материалов.

В чистые промаркированные пробирки типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл отобрать 1,2 мл полученной суспензии. Центрифугировать пробирки с исследуемыми образцами при 3 000 g в течение 5 мин.

Допускается хранение образцов до проведения ПЦР-исследования:

- при температуре от 20 до 25 °С – в течение 6 часов;
- при температуре от 2 до 8 °С – в течение 1 суток;
- при температуре минус 20 °С – в течение 1 недели;
- при температуре минус 68 °С – длительно.

Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.

### **7.22. Культуры клеток**

#### **7.22.1. Взятие материала**

**Бактериальные культуры клеток (культуры микроорганизмов)** отбирают с помощью стерильной бактериологической петли в пробирку с транспортной средой, стерильным физиологическим раствором или стерильной дистиллированной водой объемом 500 мкл, а затем перемешивают.

**Культуры клеток животных** - в зависимости от тропизма возбудителя, отбирают либо культуральную жидкость, либо суспензию клеток.

### **7.23. ФТА-карты**

#### **7.23.1. Взятие материала**

Исследуемые образцы наносят на поверхность ФТА-карт согласно рекомендациям Производителя, указанным в инструкции по их применению.

Хранение и транспортировка ФТА-карт осуществляется согласно рекомендациям Производителя, указанным в инструкции по их применению.

#### **7.23.2. Пробоподготовка**

Вырезать участок ФТА-карты с нанесенным на неё исследуемым образцом размером от 0,3 см<sup>2</sup> до 0,5 см<sup>2</sup>, и поместить его в пробирку с **300 мкл буфера L**. При необходимости возможно измельчить вырезанный фрагмент карты на небольшие кусочки.

Далее следует интенсивно перемешать пробирку с фрагментом карты, после чего инкубировать содержимое пробирки при 65 °С 5 мин, затем центрифугировать при 400 g в течение 2 минут.

Полученную после этого надосадочную жидкость, не захватывая кусочки ФТА-карты, перенести в чистую пробирку и добавить в неё **ВКО В**, затем инкубировать содержимое пробирки при 65 °С 5 мин.

Экстракцию НК проводить согласно п.п. 8.1.2.5. – 8.1.2.17.

---

## 8.ЭКСТРАКЦИЯ НК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

---

Экстракция НК должна проводиться при нормальных показателях микроклимата клинико-диагностической лаборатории<sup>4</sup>:

- температура окружающего воздуха от 20 до 28 °С;
- относительная влажность от 40 до 75 %.

### 8.1. Методика экстракции НК

**ВНИМАНИЕ!** Для внесения в пробирки реагентов, исследуемых и контрольных образцов использовать одноразовые наконечники с фильтрами.

**ВНИМАНИЕ!** Если в состав набора для проведения амплификации включены ВКО, отрицательный (ОК) и положительный (ПК) контроли<sup>5</sup>, то их необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

#### 8.1.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.1.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный (ОК) и положительный (ПК)<sup>6</sup> контроли.

8.1.1.2. Раствор для лизиса прогреть при температуре 65 °С до полного растворения кристаллов.

8.1.1.3. Перемешать взбалтыванием **Раствор для лизиса, Раствор для преципитации, Раствор для отмывки 3 и Раствор для отмывки 4.**

8.1.1.4. Перемешать **РНК-буфер, ВКО В и ОКО**, осадить капли на вортексе.

#### 8.1.2. Процедура экстракции НК

8.1.2.1. Внести в каждую пробирку по **10 мкл ВКО В**. Добавить в пробирки по **300 мкл Раствора для лизиса**. Промаркировать пробирки.

8.1.2.2. В пробирки с **Раствором для лизиса и ВКО В** внести по **100 мкл подготовленных проб**, используя наконечники с фильтром. В пробирку отрицательного контроля выделения (ОКО) внести **100 мкл ОКО**. В пробирку положительного контроля (ПК) (если он предусмотрен для анализа) внести **90 мкл ОКО и 10 мкл ПКО**.

8.1.2.3. Содержимое пробирок тщательно перемешать на вортексе, процентрифугировать в течение 5 с на микроцентрифуге для удаления капель с внутренней поверхности крышки.

8.1.2.4. Поместить пробирки в термостат с температурой 65 °С на 5 мин.

8.1.2.5. Добавить в пробирки по **400 мкл Раствора для преципитации**, перемешать на вортексе.

---

<sup>4</sup> Указаны допустимые нормы температуры и относительной влажности воздуха в рабочей зоне производственных помещений в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

<sup>5</sup> Результаты постановки контролей используются при оценке достоверности результатов ПЦР-исследования биологических образцов. Анализ и оценка результатов для контролей проводится согласно инструкции к набору реагентов для проведения амплификации.

<sup>6</sup> Если положительный контроль предусмотрен согласно инструкции к набору для амплификации.

8.1.2.6.Процентрифугировать пробирки на микроцентрифуге в течение 5 мин при 13 тыс об/мин.

8.1.2.7.Аккуратно отобрать надосадочную жидкость, не задевая осадок, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник на 200 мкл для каждой пробы.

8.1.2.8.Добавить в пробирки по **500 мкл Раствора для отмывки 3**, плотно закрыть крышки, осторожно промыть осадок, переворачивая пробирки 3-5 раз. Можно провести процедуру одновременно для всех пробирок, для этого необходимо накрыть пробирки в штативе сверху крышкой или другим штативом, прижать их и переворачивать штатив.

8.1.2.9.Процентрифугировать при 13 тыс об/мин в течение 1-2 мин на микроцентрифуге.

8.1.2.10.Осторожно, не захватывая осадок, отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 10 мкл для каждой пробы.

8.1.2.11.Добавить в пробирки по **200 мкл Раствора для отмывки 4**, плотно закрыть крышки и осторожно промыть осадок, переворачивая пробирки 3-5 раз.

8.1.2.12.Процентрифугировать при 13 тыс об/мин в течение 1-2 мин на микроцентрифуге.

8.1.2.13.Осторожно, не захватывая осадок, отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 10 мкл для каждой пробы.

8.1.2.14.Поместить пробирки в термостат при температуре 65 °С на 5 мин для подсушивания осадка (при этом крышки пробирок должны быть открыты).

8.1.2.15.Добавить в пробирки по **50 мкл РНК-буфера**. Перемешать на вортексе. Поместить в термостат при температуре 65 °С на 5 мин, периодически встряхивая на вортексе. Допускается при необходимости увеличение объема элюции до 90 мкл.

8.1.2.16.Процентрифугировать пробирки при 13 тыс об/мин в течение 1 мин на микроцентрифуге.

8.1.2.17.Надосадочная жидкость содержит очищенные РНК и ДНК. Пробы готовы к постановке реакции обратной транскрипции и/или ПЦР.

## **8.2. Хранение очищенных НК**

Очищенная ДНК может храниться при температуре от 2 до 8 °С в течение недели, при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение 6 месяцев и при температуре не выше минус 68 °С в течение года.

Очищенная РНК может храниться при температуре от 2 до 8 °С до 4 ч, при температуре от минус 24 до минус 16 °С в течение недели и при температуре не выше минус 68 °С в течение года.

---

## 9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

---

### 9.1. Срок годности

Срок годности набора составляет 12 месяцев от даты изготовления. После вскрытия, реагенты использовать до истечения срока годности набора. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

### 9.2. Транспортирование

Набор транспортировать при температуре от 2 до 8 °С всеми видами крытых транспортных средств в термоконтейнерах с хладоэлементами или в авторефрижераторах. Не допускается замораживание реагентов.

Допускается транспортирование при температуре от 8 до 25 °С не более 3 суток.

Набор, транспортированный с нарушением указанного температурного режима, применению не подлежит.

### 9.3. Хранение

Набор хранить при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности набора. Не допускается замораживание реагентов.

Реагенты после вскрытия хранить в тех же условиях, что и реагенты до вскрытия. Невскрытые и вскрытые реагенты стабильны в течение срока годности, указанного на этикетке, при соблюдении указанных условий хранения.

Набор, хранившийся с нарушением указанного режима хранения, применению не подлежит.

---

## 10. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

---

Производитель гарантирует соответствие характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение указанного срока годности при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и применения.

Рекламации на качество набора реагентов «АмплиПрайм® РИБО-преп ВЕТ» направлять в адрес производителя ООО «НекстБио»: 111394 г. Москва, ул. Полимерная, 8 стр. 2, тел. (495) 620-08-73, e-mail: info@nextbio.ru.

Консультацию по работе с набором, а также по вопросам, касающимся качества набора, можно получить по контактам, указанным на официальном сайте Производителя: [www.nextbio.ru](http://www.nextbio.ru).

## 11. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Номер по каталогу



Дата изготовления



Код партии



Использовать до



Содержимого достаточно  
для проведения n-количества  
тестов



Температурный диапазон



Обратитесь к инструкции по  
применению



Символы опасности



Изготовитель