



Набор реагентов для экстракции ДНК/РНК из биологического материала животных и продуктов питания животного происхождения «МагноПрайм® ВЕТ»

МагноПрайм® ВЕТ

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

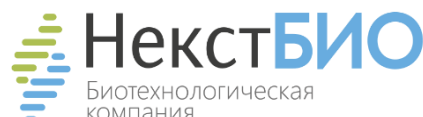
Форма «Формат 96»: **REF** V104-Z

Форма «Формат Контроли»: **REF** V104-Z2

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



Биотехнологическая
компания

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	9
6.1. Взятие исследуемого материала.....	9
6.2. Предварительная обработка исследуемого материала	10
6.3. При использовании набора совместно с автоматическими станциями для экстракции НК.....	14
6.4. При использовании набора в случае ручной методики 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.....	22
7.14. Амниотическая жидкость	22
7.15. Молоко	22
7.16. Фрагменты тканей и органов (в том числе ушные выщипы).....	23
7.17. Смыть с объектов окружающей среды.....	23
7.18. Суспензии насекомых (комары, москиты, пчелы, мокрецы и другие), клещи (и другие животные типа Членистоногие)	24
7.19. Волосные луковицы	24
7.20. Перья птиц.....	25
7.21. Продукты питания животного происхождения и корма.....	25
7.22. Культуры микроорганизмов и культуры клеток животных	25
7.23. FTA-карты	26
8. ЭКСТРАКЦИЯ НК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА	27
8.1. Автоматическая методика экстракции	27
8.2. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива	29
8.3. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования.....	30
8.4. Хранение очищенных НК	32
9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА	33
9.1. Срок годности	33
9.2. Транспортирование.....	33
9.3. Хранение	33
10. ГАРАНТИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	33
11. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ.....	34

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВКО	Внутренний контрольный образец
ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ДНКаза	Дезоксирибонуклеаза
НК	Нуклеиновые кислоты
ОК	Отрицательный контроль
ОКО	Отрицательный контрольный образец
ПК	Положительный контроль
ПКО	Положительный контрольный образец
РНК	Рибонуклеиновая кислота
РНКаза	Рибонуклеаза
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
ОТ	Обратная транскрипция
МГС	Магнетизированная силика

НАИМЕНОВАНИЕ ИЗДЕЛИЯ

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

Далее по тексту употребляется краткое наименование: Набор реагентов «МагноПрайм® ВЕТ», а также сокращение Набор реагентов.

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «МагноПрайм® ВЕТ» (далее по тексту – набор) предназначен для экстракции ДНК/РНК биологических агентов¹ из биологического материала животных и продуктов питания животного происхождения, перечисленного 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;
- 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, консервы);
- культуры микроорганизмов и культуры клеток животных (инфицированные культуры клеток);
- ФТА-карты.

Набор может использоваться совместно с автоматическими станциями для экстракции нуклеиновых кислот, при условии, что запрограммирована последовательность действий, изложенная в данной инструкции.

ВНИМАНИЕ! Только для ветеринарного применения.

¹ Бактерии, вирусы, грибы.

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

2.1. Состав и комплектность





Набор выпускается в двух формах (состав форм и комплектность поставки см. в таблице 1 и 2).

Форма выпуска «Формат 96» содержит полный комплект реагентов, необходимых для экстракции НК из заявленного в разделе «Исследуемый материал» перечня биологического материала и продуктов питания. Форма выпуска «Формат 96» рассчитана на выделение НК из 96 образцов, включая контроли.

Форма выпуска «Формат Контроли» содержит контрольные образцы, необходимые для проведения исследования с помощью набора реагентов для амплификации производства ООО «НекстБио» и набора реагентов для экстракции стороннего производителя.

Таблица 1

Состав набора

Реагент	Объем, мл	Количество	Описание
Форма выпуска «Формат 96»			
Буфер L ²  Опасно	53,0	1 флакон	Лизирующий раствор. Прозрачная жидкость ³ .
Буфер W1 ²  Опасно	75,0	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость ³ .
Буфер W2 ²  Опасно	75,0	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер W3 ²  Опасно	75,0	1 флакон	Раствор для отмывки. Прозрачная жидкость.
Буфер E1	29,0	1 флакон	Раствор для элюции. Прозрачная жидкость.
МГС	1,1	1 пробирка	Сорбент (магнетизированная силика). Суспензия.
Реагент А	1,1	1 пробирка	Вспомогательный реагент для проведения лизиса. Прозрачная жидкость.
ВКО В	1,1	1 пробирка	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,1	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.
Форма выпуска «Формат Контроли»			
ВКО В	1,1	1 пробирка	Внутренний контрольный образец. Прозрачная жидкость.
ОКО	1,1	1 пробирка	Отрицательный контрольный образец. Прозрачная жидкость.

² Реагенты содержат опасные вещества. Информацию по опасным веществам и мерам предосторожности при работе с реагентами см. в разделе инструкции «Меры предосторожности и предупреждения».

³ При хранении Буфера L и Буфера W1 возможно образование осадка в виде кристаллов.

Комплектность набора

Компонент	Формат	Количество
Форма выпуска «Формат 96»		
Набор реагентов (форма выпуска «Формат 96»)	–	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: www.nextbio.ru	1
Краткое руководство по применению набора	в бумажном виде	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: www.nextbio.ru	1
Форма выпуска «Формат Контроли»		
Набор реагентов (форма выпуска «Формат Контроли»)	–	1
Инструкция по применению набора	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: www.nextbio.ru	1
Паспорт качества	в электронном виде на официальном сайте Производителя по адресу: www.nextbio.r	1

2.2. Принцип метода

Исследуемый образец в объеме 100 мкл обрабатывается лизирующим раствором в присутствии частиц магнетизированной силики – магнитного сорбента. В результате происходит деструкция клеточных мембран, вирусных оболочек и других биополимерных комплексов и высвобождение ДНК/РНК. Растворенная ДНК/РНК связывается с частицами сорбента, в то время как другие компоненты лизированного биологического материала остаются в растворе и удаляются при осаждении сорбента на магнитном штативе/стержне или с использованием центрифуги и с последующими отмывками сорбента. При добавлении буфера для элюции ДНК/РНК к магнитному сорбенту происходит переход ДНК/РНК с поверхности силики в раствор, который затем отделяется от частиц сорбента магнитной силой либо центрифугированием.

3. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

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

4. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

4.1. Набор «МагноПрайм® ВЕТ» применяется только для ветеринарных и других немедицинских целей.

4.2. Набор предназначен для экстракции ДНК/РНК биологических агентов только из биологического материала и продуктов питания животного происхождения, а также кормов (кормовые добавки, комбикорма, текстураты, мясокостная мука, консервы), указанных в разделе «Назначение». Применение набора для выделения НК из другого вида биологического 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 СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» 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 СанПиН 3.3686-21.

– Убирать и дезинфицировать разлитые образцы или реагенты, используя дезинфицирующие средства в соответствии с СанПиН 3.3686-21.

– Удалять неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, а также использованные реагенты, упаковку⁴, биологический материал⁵, 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 фильтром⁶. Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) необходимо сбрасывать в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующее средство, которое может быть использовано для обеззараживания медицинских 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 СанПиН 3.3686-21).

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

⁴ Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковка относятся к классу опасности медицинских отходов Г.

⁵ Биологический материал, включая инструменты и предметы, загрязненные материалом, относятся к классу опасности медицинских отходов Б.

⁶ Для удаления надосадочной жидкости в процессе экстракции используются одноразовые наконечники без фильтра.

- 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.
- 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 МГС, Буфером E1 и Реагентом А 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 Буфер L, Буфер W1, Буфер W2, Буфер W3 содержат опасные вещества, указанные в таблице 3. Заявления об опасности и меры предосторожности, требуемые при работе с данными реагентами, описаны в таблице 3. Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности представлена в таблице 4.

Таблица 3

**Заявления об опасности и меры предосторожности при работе с
Буфером L, Буфером W1, Буфером W2 и Буфером W3**

Реагент	Опасные вещества	Заявления об опасности	Меры предосторожности
Буфер L	изопропанол, гуанидин хлорид, гуанидин тиоцианат, тритон X-100, 1-тиоглицерол	H225, H302, H311, H312, H315, H319, H332, H336, H411, H412, EUH032	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P270, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P332+P313, P337+P313, P362+P364, P370+P378, P403+P235, P501
Буфер W1	изопропанол, гуанидин тиоцианат	H225, H302, H312, H319, H332, H336, H412, EUH032	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P273, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403 + P235, P501
Буфер W2	изопропанол	H225, H319, H336	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501
Буфер W3	изопропанол	H225, H319, H336,	P210, P233, P241, P242, P261, P264, P271, P280, P303+P361+P353, P305+P351+P338, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P235, P501

Таблица 4

Расшифровка кодов для заявлений об опасности и мер предосторожности

Заявления об опасности	
H225: Легковоспламеняющаяся жидкость и пар.	H336: Может вызывать вялость или сонливость.
H302: Вредно при проглатывании.	H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями.
H311: Токсично при контакте с кожей.	H412: Вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями.
H312: Вредно при контакте с кожей.	EUH032: При контакте с кислотами освобождаются очень токсичные газы.
H315: Вызывает раздражение кожи.	
H319: Вызывает серьезное раздражение глаз.	
H332: Вредно при вдыхании.	

Меры предосторожности

<p>P210: Хранить вдали от источников тепла, горячих поверхностей, искр, открытого пламени и других источников воспламенения. Не курить.</p> <p>P233: Хранить в плотно закрытой таре.</p> <p>P241: Использовать взрывобезопасное электрическое оборудование.</p> <p>P242: Используйте только не искрящие инструменты.</p> <p>P261: Избегать вдыхания паров.</p> <p>P264: Вымойте руки после работы тщательно.</p> <p>P270: Не есть, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.</p> <p>P271: Используйте только на открытом воздухе или в хорошо вентилируемом помещении.</p> <p>P273: Избегать попадания в окружающую среду.</p> <p>P280: Пользоваться защитными перчатками и средствами защиты глаз.</p> <p>P303+P361+P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): Немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой или принять душ.</p>	<p>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.</p> <p>P312: Обратиться к врачу при плохом самочувствии.</p> <p>P332+P313: При раздражении кожи: обратиться к врачу.</p> <p>P337+P313: Если раздражение глаз не проходит, обратиться за медицинской консультацией.</p> <p>P362+P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.</p> <p>P370+P378: В случае пожара: Использовать огнетушитель для тушения.</p> <p>P403+P235: Хранить в прохладном, хорошо вентилируемом месте.</p> <p>P501: Утилизировать содержимое в соответствии с национальными правилами СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».</p>
---	--

– Входящие в состав набора Буфер E1, Реагент А и МГС 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. Веревочный 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 100 мкл, до 200 мкл и 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. Одноразовые полипропиленовые плотно закрывающиеся пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.

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

6.2.3.3. Фосфатный буфер или стерильный изотонический раствор натрия хлорида.

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

6.2.3.5. Автоматический дозатор переменного объема на 200 мкл.

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

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 аллантаисной жидкости

6.2.7.1. Стерильный одноразовый шприц для взятия, транспортирования и хранения аллантаисной 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 М 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. Чистая емкость из стекла или пластика с герметично закрывающейся крышкой объемом 50 мл.

6.2.12.8. Вортекс.

6.2.13. Предварительная обработка исследуемого материала, полученного с поверхности ФТА-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. При использовании набора совместно с автоматическими станциями для экстракции НК

ВНИМАНИЕ! При работе с набором следует использовать только одноразовые полипропиленовые пробирки и наконечники, сертифицированные на отсутствие ДНКаз и РНКаз.

6.3.1. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.3.2. Вортекс.

6.3.3. Автоматическая станция для экстракции НК, удовлетворяющая следующим требованиям:

– возможность реализации последовательности этапов экстракции, описанной в разделе «Экстракция НК из исследуемого материала» (п. 8.1.2);

– наличие магнитного штатива или магнитных стержней для сбора магнетизированной силики;

– наличие термостата или термошейкера с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С;

– наличие системы перемешивания жидкостей шейкированием или пипетированием.

6.3.4. Комплект расходных материалов для автоматической станции для экстракции НК согласно инструкции Производителя.

6.3.5. Холодильник от 2 до 8 °С.

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

6.3.7. Одноразовые пластиковые контейнеры для сброса и инактивации материалов.

6.4. При использовании набора в случае ручной методики экстракции НК

6.4.1. Одноразовые полипропиленовые пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл, свободные от ДНКаз и РНКаз.

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

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

6.4.4. Штативы для пробирок объемом 1,5 или 2,0 мл.

6.4.5. Магнитный штатив для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 или 2,0 мл – при проведении экстракции с использованием магнитного штатива (см. раздел «Экстракция НК из исследуемого материала», п. 8.2).

6.4.6. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл с ускорением не менее 10 000 g – при проведении экстракции с использованием центрифугирования (см. раздел «Экстракция НК из исследуемого материала», п. 8.3).

6.4.7. Ламинарный бокс класс биологической безопасности II тип А.

6.4.8. Вортекс.

6.4.9. Термостат для пробирок типа «Эппендорф» с возможностью нагрева не менее чем до 80 °С.

- 6.4.10. Вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости.
- 6.4.11. Автоматические дозаторы переменного объема.
- 6.4.12. Холодильник от 2 до 8 °С.
- 6.4.13. Отдельный халат, шапочка, обувь и одноразовые перчатки в соответствии с МУ 1.3.2569-09.
- 6.4.14. 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 микроорганизмов и культуры клеток животных (инфицированные культуры клеток);
- 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 800–1600g (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 °С.

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.

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.

7.13. 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 ± 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 57989-2017 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 Буфера L 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. 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 микроорганизмов и культуры клеток животных

7.22.1. Взятие материала

Культуры микроорганизмов: колонии 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 (инфицированные культуры клеток): в зависимости от тропизма возбудителя, отбирают либо культуральную жидкость, либо суспензию клеток.

7.23. FTA-карты

7.23.1. Взятие материала

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

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

7.23.2. Пробоподготовка

Вырезать участок FTA-карты с нанесенным на неё исследуемым образцом размером от 0,3 см² до 0,5 см², и поместить его в пробирку с **500 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 60 °С 10 мин, затем центрифугировать при 400 g в течение 2 минут. Полученную после этого надосадочную жидкость, не захватывая кусочки FTA-карты, перенести в чистую пробирку и добавить в неё **10 мкл ВКО**, **10 мкл Реагента А**, **10 мкл МГС**, затем инкубировать содержимое пробирки при 60 °С 10 мин.

Экстракцию НК проводить согласно п.п. 8.2.2.4 – 8.2.2.21 для ручной методики экстракции с использованием магнитного штатива или согласно п.п. 8.3.2.4 – 8.3.2.19 для ручной методики экстракции с использованием центрифугирования).

8. ЭКСТРАКЦИЯ НК ИЗ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

ВНИМАНИЕ! Раздел «Экстракция НК из исследуемого материала» предназначен только для набора «МагноПрайм® ВЕТ» формы выпуска «Формат 96». При использовании набора «МагноПрайм® ВЕТ» формы выпуска «Формат Контроли» руководствуйтесь инструкцией к используемому набору реагентов для экстракции НК, требуемый объем ВКО и ОКО для соответствующих образцов смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включен внутренний контрольный образец (ВКО), то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

ВНИМАНИЕ! Необходимо скорректировать объем ВКО для расчета объема смеси реагентов и объем приготовленной смеси, используемый для одного образца, если при проведении экстракции ВКО не используется, либо одновременно используются несколько различных препаратов ВКО, либо добавляемый объем ВКО отличается от 10 мкл.

Экстракция НК должна проводиться при нормальных показателях микроклимата клинично-диагностической лаборатории⁷:

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

8.1. Автоматическая методика экстракции

ВНИМАНИЕ! При использовании автоматической станции для экстракции НК, необходимо ознакомиться с инструкцией по эксплуатации данной автоматической станции и запрограммировать последовательность действий, указанную в п. 8.1.2.

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включен внутренний контрольный образец (ВКО), то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.1.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.1.1.1. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования).

8.1.1.2. Перемешать взбалтыванием **Буфер L**, **Буфер W1**, **Буфер W2**, **Буфер W3** и **Буфер E1**.

8.1.1.3. Перемешать **Реагент А**, **ВКО** и **ОКО**, осадить капли на вортексе.

8.1.1.4. Допускается внесение всего содержимого пробирок с **Реагентом А** и **МГС** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 25 °С.

8.1.2. Процедура экстракции НК

8.1.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл или ячейку картриджа (в зависимости от модели автоматической станции) для исследуемых и контрольных образцов отдельно **10 мкл ВКО**, **10 мкл Реагента А**, **10 мкл МГС** и **500 мкл Буфера L** или **10 мкл ВКО** и **520 мкл** подготовленной смеси **Реагента А**, **МГС** и **Буфера L**.

⁷ 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».

8.1.2.2. Внести в пробирки исследуемые⁸ и контрольные⁹ (**ОКО** и **ПКО**¹⁰) образцы в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.3. Прогреть пробирки при температуре **60 °С** в течение **10 мин.**

8.1.2.4. Перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.5. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**

8.1.2.6. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

8.1.2.7. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W1**, перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.8. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**

8.1.2.9. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

8.1.2.10. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**, перемешать содержимое пробирок.

8.1.2.11. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**

8.1.2.12. Удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

8.1.2.13. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W3** и удалить надосадочную жидкость, не вынимая пробирки из магнитного штатива или не вытаскивая магнитный стержень из пробирок.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера W3 содержимое пробирок не перемешивать.

8.1.2.14. Добавить в пробирки от **100 до 250 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать.

8.1.2.15. Прогреть пробирки при температуре **80 °С** в течение **5 мин** с включенным перемешиванием.

8.1.2.16. Поместить пробирки в магнитный штатив или опустить в пробирки магнитный стержень на **2 мин.**

8.1.2.17. Вынуть магнитный стержень с силикой из пробирок или при использовании магнитного штатива перенести надосадочную жидкость в новую пробирку или плашку.

8.1.2.18. Элюат содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ОТ и/или ПЦР.

⁸ Для некоторых видов биологического материала необходимо произвести предобработку согласно разделу «Исследуемый материал».

⁹ 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.

¹⁰ Если предусмотрен для проведения исследования.

8.2. Ручная методика экстракции с использованием магнитного штатива

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

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включен внутренний контрольный образец (ВКО), то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.2.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.2.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный (ОК) и положительный (ПК¹¹) контроли. Промаркировать.

8.2.1.2. Перемешать взбалтыванием **Буфер L**, **Буфер W1**, **Буфер W2**, **Буфер W3** и **Буфер E1**.

8.2.1.3. Перемешать **Реагент А**, **ВКО** и **ОКО**, осадить капли на вортексе.

8.2.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.2.1.5. Допускается внесение всего содержимого пробирок с **Реагентом А** и **МГС** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 25 °С.

8.2.2. Процедура экстракции НК

8.2.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

а) **10 мкл ВКО¹²**, **10 мкл Реагента А**, **10 мкл МГС**, **500 мкл Буфера L**

или

б) **10 мкл ВКО** и **520 мкл смеси Реагента А, МГС, Буфера L**.

8.2.2.2. Внести в пробирки исследуемые¹³ и контрольные¹⁴ (ОКО и ПК¹⁵) образцы в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотнo закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.2.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**.

8.2.2.4. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.2.2.5. Перенести пробирки в магнитный штатив на **2 мин**.

8.2.2.6. Без снятия пробирок с магнитного штатива, по внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на **200 мкл** для каждой пробы.

8.2.2.7. Перенести пробирки в обычный штатив, добавить в них по **700 мкл Буфера W1**. Плотнo закрыть крышки.

¹¹ Если предусмотрен для проведения исследования.

¹² Требуемый объем ВКО для образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

¹³ Для некоторых видов биологического материала необходимо произвести предобработку согласно разделу «Исследуемый материал».

¹⁴ 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.

¹⁵ Если предусмотрен для проведения исследования.

8.2.2.8. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.2.2.9. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин.**

8.2.2.10. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.2.2.6.

8.2.2.11. Перенести пробирки в обычный штатив, добавить в них по **700 мкл Буфера W2**. Плотно закрыть крышки.

8.2.2.12. Перемешать содержимое пробирок и осадить капли на вортексе.

8.2.2.13. Поместить пробирки в обычный штатив, открыть крышки и переставить в магнитный штатив на **2 мин.**

8.2.2.14. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.2.2.6.

8.2.2.15. Не вынимая пробирки из магнитного штатива, добавить в них по **700 мкл Буфера W3**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера W3 содержимое пробирок не перемешивать.

8.2.2.16. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.2.2.6.

8.2.2.17. Перенести пробирки в обычный штатив, добавить от **100 до 250 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации). Плотно закрыть крышки.

8.2.2.18. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.2.2.19. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °C** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин.**

8.2.2.20. Осадить капли на вортексе и поместить пробирки в магнитный штатив на **2 мин.**

8.2.2.21. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ОТ и/или ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Отбор очищенных ДНК/РНК для проведения дальнейшего исследования осуществляется без снятия пробирок с магнитного штатива.

Для хранения НК необходимо, не захватывая силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

8.3. Ручная методика экстракции с использованием центрифугирования

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

ВНИМАНИЕ! Если в состав набора для проведения амплификации включен внутренний контрольный образец (ВКО), то его необходимо использовать на стадии экстракции согласно инструкции по применению данного набора.

8.3.1. Подготовка к проведению процедуры экстракции НК

8.3.1.1. Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл (включая отрицательный (ОК) и положительный (ПК¹⁶) контроли. Промаркировать.

8.3.1.2. Перемешать взбалтыванием **Буфер L, Буфер W1, Буфер W2, Буфер W3 и Буфер E1**.

8.3.1.3. Перемешать **Реагент А, ВКО и ОКО**, осадить капли на вортексе.

¹⁶ Если предусмотрен для проведения исследования.

8.3.1.4. Полностью ресуспендировать содержимое пробирки с **МГС** на вортексе. Сбросить капли с крышки пробирки вручную (без центрифугирования), затем открыть пробирку и дополнительно перемешать пипетированием с помощью дозатора.

8.3.1.5. Допускается внесение всего содержимого пробирок с **Реагентом А** и **МГС** в **Буфер L**. Полученную смесь тщательно перемешать взбалтыванием. Смесь хранить не более 2 месяцев при температуре от 2 до 25 °С.

8.3.2. Процедура экстракции НК

8.3.2.1. Внести в каждую пробирку объемом 1,5 мл для исследуемых и контрольных образцов:

а) **10 мкл ВКО¹⁷, 10 мкл Реагента А, 10 мкл МГС, 500 мкл Буфера L**

или

б) **10 мкл ВКО и 520 мкл смеси Реагента А, МГС, Буфера L.**

8.3.2.2. Внести в пробирки исследуемые¹⁸ и контрольные¹⁹ (ОКО и ПКО²⁰) образцы в объеме **100 мкл**, используя для каждого образца отдельный наконечник. Плотно закрыть крышки, перемешать на вортексе.

8.3.2.3. Поместить пробирки в термостат с температурой **60 °С** на **10 мин**.

8.3.2.4. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.5. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.6. По внутренней стенке пробирки осторожно отобрать надосадочную жидкость, используя вакуумный отсасыватель и отдельный наконечник без фильтра на 200 мкл для каждой пробы.

8.3.2.7. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W1**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.8. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.9. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.6.

8.3.2.10. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W2**. Перемешать содержимое пробирок на вортексе.

8.3.2.11. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.12. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.6.

8.3.2.13. Добавить в пробирки по **700 мкл Буфера W3**.

ВНИМАНИЕ! После добавления Буфера W3 содержимое пробирок не перемешивать.

8.3.2.14. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.15. Отобрать надосадочную жидкость аналогично п. 8.3.2.6.

8.3.2.16. Добавить в пробирки от **100 до 250 мкл Буфера E1** (см. инструкцию к используемому набору реагентов для проведения амплификации), перемешать на вортексе.

¹⁷ Требуемый объем ВКО для образца смотрите в инструкции к используемому набору реагентов для проведения амплификации.

¹⁸ Для некоторых видов биологического материала необходимо произвести предобработку согласно разделу «Исследуемый материал».

¹⁹ 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.

²⁰ Если предусмотрен для проведения исследования.

8.3.2.17. Поместить пробирки в термостат с температурой **80 °С** на **5 мин**, перемешивая каждые **2 мин**.

8.3.2.18. Центрифугировать в течение **1 мин** при **10 000 g**.

8.3.2.19. Надосадочная жидкость содержит очищенные ДНК и РНК. Пробы готовы к постановке реакции ОТ и/или ПЦР.

ВНИМАНИЕ! Внесение ДНК/РНК в реакцию необходимо провести незамедлительно после центрифугирования. Если в течение 3 мин после центрифугирования проба не внесена в реакцию, необходимо провести повторное центрифугирование.

8.4. Хранение очищенных НК

Выделенные и очищенные из биологического материала животных и продуктов питания животного происхождения НК могут использоваться в постановках ПЦР с использованием наборов реагентов производства ООО «НекстБио».

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.

Для хранения НК необходимо, не захватывая магнетизированную силику, перенести надосадочную жидкость в новую пробирку.

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. Смесь, приготовленную из Буфера L, Реагента А и МГС, хранить при температуре от 2 до 25 °С не более 2 месяцев.

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 «МагноПрайм® 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.

11. СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ДОКУМЕНТАЦИИ ПРОИЗВОДИТЕЛЯ



Номер по каталогу



Изготовитель



Код партии



Дата изготовления



Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов



Использовать до



Обратитесь к инструкции по применению



Температурный диапазон



Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению



Символы опасности