



ИНСТРУКЦИЯ

**по применению набора реагентов «ПЦР-Ф-АЧС-ФАКТОР»
для выявления ДНК вируса африканской чумы свиней (*Pestis africana*
suis) в биологическом материале, кормах, продуктах питания и изделиях
свиного происхождения, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с
электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле**

21.10.60-312-51062356-2022

Для диагностики *in vitro*

Содержание

Список сокращений	3
1. Назначение	4
2. Характеристика набора	4
3. Аналитические характеристики.....	6
4. Меры предосторожности.....	6
5. Материалы и оборудование	6
6. Взятие и обработка материала, транспортирование и хранение проб	9
6.1 Отбор материала для исследования, транспортировка и хранение	9
6.2. Подготовка исследуемых проб	9
7. Проведение анализа	11
7.1. Экстракция (выделение) НК из исследуемых проб	10
7.2. Подготовка и проведение ПЦР	10
7.3 Детекция продуктов ПЦР амплификации методом электрофореза в агарозном геле	12
8. Интерпретация результатов анализа	13
9. Условия транспортирования	14
10. Условия хранения	15
11. Срок годности	15
Приложение 1. Приготовление реакционной смеси	15
Приложение 2. Порядок работы на амплификаторе «Терцик».....	16
Приложение 3. Лист вносимых изменений	19

Список сокращений

ВКО	внутренний контрольный образец
К-	отрицательный контроль
ВК-	отрицательный контроль этапа экстракции
К+	положительный контроль
ОКО	отрицательный контрольный образец
ПКО	положительный контрольный образец
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
НК	нуклеиновая кислота
СП	санитарные правила
МУ	методические указания

1. Назначение

Набор предназначен для выявления ДНК вируса африканской чумы свиней (*Pestis africana suum*) в клиническом материале (цельной крови, плазме, сыворотке крови, мазках со слизистой носоглотки и миндалин), патологическом материале от павших животных (миндалины, селезенка, легкие, печень, лимфоузлы, трубчатые кости и др.), кормах, пищевых и кормовых добавках (в том числе мясокостной муке), а также продуктах и изделиях свиного происхождения (мясо, шпик, п/ф, фарш, колбасы, шкуры и т.п.), методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующей электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле.

2. Характеристика набора

2.1 Принцип действия

Набор позволяет специфически амплифицировать фрагмент генома вируса африканской чумы свиней и ДНК внутреннего положительного контроля (бактериофага Т4) в мультиплексной полимеразной цепной реакции. Детекция продуктов амплификации осуществляется электрофоретически с разделением продуктов амплификации в агарозном геле.

2.2 Состав набора

Набор состоит из комплекта реагентов для проведения мультиплексной ПЦР (комплект № 1) и комплекта контрольных образцов (комплект № 2). Набор выпускается в двух вариантах:

- 1) для анализа 55 образцов (включая контрольные образцы)
- 2) для анализа 110 образцов (включая контрольные образцы).

Состав набора приведен в Таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Состав комплекта №1

№	Состав комплекта	Описание	Объем (мкл.)		Количество пробирок
			На 55 реакций	На 110 реакций	
1	Смесь для проведения ПЦР, ПЦР ASFV	прозрачная жидкость зеленого цвета	830	1660	1
2	ДНК Полимераза, TAQ POLYMERASE	прозрачная бесцветная вязкая жидкость	17	33	1
3	Буфер для разведения ДНК, ДНК БУФЕР	прозрачная бесцветная жидкость	500	1000	1
4	Минеральное масло МИН. МАСЛО	прозрачная вязкая бесцветная жидкость	2000	2000	1(2)

Таблица 2. Состав комплекта №2

№	Состав комплекта	Описание	Объем (мкл.)		Количество пробирок
			на 55 реакций	на 110 реакций	
1	Внутренний контрольный образец, ВКО Т1	прозрачная бесцветная жидкость ¹	550	1100	1
2	Отрицательный контрольный образец, ОКО (ТЕ буфер) ²	прозрачная бесцветная жидкость	1500	2000	1
3	Положительный контрольный образец, ПКО ASFV	прозрачная бесцветная жидкость	100	200	1

¹ Возможна легкая опалесценция

² Вместо ОКО допускается использование физиологического раствора, ТЕ-буфера, дистиллированной воды. Реагенты должны быть чистыми и стерильными. Запрещается использовать забуференный физиологический раствор!

В набор не входят реактивы для экстракции нуклеиновых кислот. Выделение ДНК может проводиться, например, с помощью наборов на основе сорбционного метода, в состав которых входит силика или микроцентрифужные колонки, и также наборов на основе фенол-хлороформной экстракции и т.п. Рекомендуется использовать набор «ДНК/РНК-С-ФАКТОР» либо аналогичный.

Для экстракции ДНК из продуктов и изделий свиного происхождения, а также из кормов, кормовых и пищевых добавок рекомендуется использовать комплект реагентов «ДНК-ПЛАНТ-ФАКТОР» (или аналогичный).

В набор не входят реактивы для проведения электрофореза в агарозном геле. Для проведения электрофореза рекомендуется использовать набор «ФОРЕЗ-ФАКТОР» или аналогичный.

3. Аналитические характеристики

Показано отсутствие неспецифических реакций компонентов набора реагентов в отношении НК других микроорганизмов: вирус классической чумы свиней; вирус болезни Ауэски; цирковироз свиней 2-го типа; парвовирус свиней; вирус трансмиссивного гастроэнтерита свиней; вирус эпидемической диареи свиней; ротавирус; вирус репродуктивно- респираторного синдрома свиней; *Bordetella bronchiseptica*; *Brucella suis*; *Campylobacter jejuni*; *Campylobacter coli*, *Escherichia coli*; *Listeria monocytogenes*; *Listeria welshimeri*, *Listeria grayi*, *Salmonella Dublin*; *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Clostridium perfringens*; *Chlamydia suis*; *Haemophilus parasuis*; *Klebsiella pneumoniae*; *Leptospira interrogans*; *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pasterella multocida*; *Pseudomonas aeruginosa*.

Показано отсутствие неспецифических реакций компонентов набора в отношении образцов ДНК свиньи, КРС, собаки и человека.

4. Меры предосторожности

Все работы по сбору, транспортированию и подготовке проб биологического материала от животных осуществлять в строгом соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Исследование проводится в два этапа в отдельных помещениях (зонах), согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности».

Все лабораторное оборудование, в том числе дозаторы, штативы, лабораторная посуда, а также все рабочие растворы должны быть строго стационарными. Запрещается их перенос из одного помещения в другое.

Работать только в одноразовых перчатках, использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники с аэрозольным барьером.

Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) сбрасывают в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор (например, 0,2% натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты).

Рабочие поверхности в ПЦР помещениях облучают УФ светом в течение 30 минут до начала и после проведения работ. Также после окончания работ рекомендуется обрабатывать рабочие поверхности дезинфицирующим раствором.

5. Материалы и оборудование

Для зоны выделения ДНК из исследуемых проб:

- Настольный бокс с бактерицидной лампой или стерильный ламинарный шкаф (например, «БАВп-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия);
- Твердотельный термостат для пробирок типа «Эппендорф» на 1,5 мл с диапазоном температур от 25 до 99 °С (например, ТТ-2-«Термит» «НПО ДНК-Технология» Россия);
- Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой для удаления надосадочной жидкости (например, «ОМ-1», г. Ульяновск, Россия).
- Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 12 тыс. об/мин (например, «MiniSpin», «Eppendorf», Германия);
- Вортекс (например «ГЭТА-2», «Биоком», Россия);
- Пипетки автоматические одноканальные переменного объема 20-200 и 200-1000 мкл; (например, «Ленпипет», Россия).
- Одноразовые полипропиленовые пробирки на 1,5 мл (например, «Ахуген», США);
- Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 200 и 1000 мкл в штативах (например, «Ахуген», США);
- Перчатки медицинские неопудренные латексные;
- Штативы для микропробирок на 1,5-2 мл (например, «Ахуген», США);
- Емкость с дезинфицирующим средством;
- Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 18 °С;
- Халат лабораторный;
- Набор для выделения ДНК по п 2.2.

Для зоны проведения ПЦР анализа:

- Амплификатор (например «Терцик», «ДТ 96» ДНК-технология).
- ПЦР-бокс (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», Ламинарные системы, Россия).
- Микроцентрифуга-вортекс (например «ГЭТА-2», «Биоком», Россия);

- Пипетки автоматические одноканальные переменного объема 2- 20, 20-200 мкл и 100-1000 мкл; (например, «Ленпипет», Россия).
- Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером до 20, 200 мкл и до 1000 мкл (например, «Ахуген», США).
- Штативы для наконечников (например, «Ахуген», США) и микропробирок на 0,2 мл (например, «SSI», США).
- Холодильник от 2 до 8 °С с морозильной камерой от минус 24 до минус 18 °С;
- Одноразовые полипропиленовые пробирки на 0,2 и 1,5 мл (например, «Ахуген», США);
- Штативы для микропробирок на 0,2 и 1,5-2,0 мл (например, «SSI», США);
- Перчатки медицинские неопудренные латексные;
- Халат лабораторный.

Для зоны электрофоретического анализа

- Реактивы для проведения электрофореза в агарозном геле;
- Камера для горизонтального электрофореза (например: «SE2», «Хеликон»);
- Источник постоянного тока с напряжением 150-460 В (например: Эльф-4, «ДНК-технология»);
- Ультрафиолетовый трансиллюминатор с кабинетом для просмотра гелей (например: «Vilber Lourmat»);
- Вideosистема с цифровой камерой для регистрации результатов (например: «Vilber Lourmat»), «Биотест-1»);
- Микроволновая печь для плавления агарозы;
- Колба коническая на 250-300 мл из термостойкого стекла для приготовления агарозы;
- Мерный цилиндр на 1 л для приготовления буфера для электрофореза;
- Штатив для микропробирок на 0,5 и 1,5 мл;
- Отдельная автоматическая пипетка на 10-50 мкл;
- Одноразовые наконечники до 200 мкл;
- Пластиковая емкость на 5 л для дезактивации буфера и гелей, содержащих бромистый этидий;
- Отдельный халат;
- Одноразовые перчатки.

6. Взятие и обработка материала, транспортирование и хранение проб

6.1 Отбор материала для исследования, транспортировка и хранение

Для исследования используют следующий материал:

- Цельная кровь, плазма крови, сыворотка крови. Кровь забирается в пробирку с 6 % ЭДТА из расчета 50 мкл раствора ЭДТА на 1 мл крови, закрытую пробирку с кровью несколько раз переворачивают.
- Для получения сыворотки забирают кровь в пробирку без антикоагулянта.
- Мазки со слизистой носоглотки и миндалин снимают с помощью стерильного зонда, зонд помещают в пластиковую микропробирку объемом 1,5 мл с 0,5 мл стерильного физиологического раствора.
- Фрагменты тканей и органов (миндалины, селезенка, легкие, печень и др.), трубчатые кости отбирают в стерильный контейнер.
- Лимфоузлы берут на исследование целиком.
- Продукты и изделия свиного происхождения (куски свинины, шпик, фарш, мясные полуфабрикаты, сосиски, колбасу, свиную кожу, желатин) отбирают в стерильные контейнеры.
- Корма, кормовые и пищевые добавки (мясокостная мука и др.) отбирают в стерильную тару.
- Культуры микроорганизмов в жидких средах отбирают в стерильную тару.
- Бактериальные колонии ресуспендируют в 0,5 мл физиологического раствора.
- Питательные среды отбирают в стерильную тару (твердые ресуспендируют в физиологическом растворе).
- Смывы с поверхностей (внутрилабораторных, с поверхностей тары, кормушек, мест содержания животных и др.) отбирают в стерильную тару с 0,5 мл физиологического раствора.

Полученные образцы можно транспортировать и хранить в следующих режимах:

- при температуре от 2 до 8°C – в течение суток;
- при температуре не выше минус 20°C – в течение месяца;
- при температуре не выше минус 68°C – длительно.

Допускается однократное замораживание-оттаивание материала.

На усмотрение ветеринарного врача допускается исследование других видов биоматериала.

6.2. Подготовка исследуемых проб

Пробы цельной крови, консервированной ЭДТА, мазки со слизистой носоглотки и миндалин, культуры микроорганизмов и питательные среды, смывы с поверхностей, жидкие пищевые и кормовые добавки используют для выделения ДНК без предварительной подготовки. Смывы с поверхностей,

взятые для проверки наличия внутрилабораторной контаминации, выделять не нужно.

Для получения плазмы пробирку с цельной кровью центрифугируют в течение 10 мин при 3800 об./мин³ (если кровь стояла при температуре от 2°C до 8°C более 1 ч после ее взятия, то пробирку следует аккуратно несколько раз перевернуть для равномерного перемешивания крови). Переносят плазму в количестве не менее 1 мл одноразовыми наконечниками с фильтром в стерильные пробирки объемом 1,5 мл.

Для получения сыворотки пробирки с кровью (без антикоагулянта) отстаивают при комнатной температуре в течение 30 минут до полного образования сгустка. Затем центрифугируют при 4000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 10 минут при комнатной температуре. Сыворотку переносят отдельными наконечниками с фильтром в стерильные пробирки объемом 1,5 мл.

Для экстракции НК из сыворотки или плазмы крови берут 100 мкл. Для экстракции НК из цельной крови берут пробу объемом не более 50 мкл.

Пробы тканей и органов, а также пробы продуктов и сырья животного происхождения гомогенизируют с использованием стерильных фарфоровых ступок и пестиков (или с применением гомогенизаторов), затем обычно готовят 10% суспензию на стерильном физиологическом растворе или фосфатном буфере. Суспензию переносят в пробирку объемом 1,5 мл и центрифугируют при 2 тыс. об./мин в течение 5-10 минут.. Надосадочную жидкость используют для экстракции НК. В некоторых случаях образовавшуюся суспензию не центрифугируют, а отстаивают при комнатной температуре в течение 15-30 мин, затем верхнюю фазу по 0,4-0,5 мл переносят пастеровской пипеткой (или наконечником с аэрозольным барьером) в пробирки на 1,5 мл, и в количестве 0,1 мл используют для выделения НК.

Из трубчатых костей извлекают костный мозг, после чего проводят пробоподготовку костного мозга аналогично пробоподготовке органов и тканей.

Исследуемые пробы кормов, сухих кормовых и пищевых добавок гомогенизируют с использованием стерильных фарфоровых ступок и пестиков или автоматических гомогенизаторов. Далее пробы отбирают в одноразовые пластиковые пробирки (емкостью 1,5 мл) в количестве 30 - 100 мг (что соответствует объему 30-50 мкл в градуированной пробирке) и используют в выделение («ДНК-ПЛАНТ-ФАКТОР» или аналогичные). При использовании набора реагентов, не предназначенного для выделения НК из кормов (напр., «ДНК/РНК-С-ФАКТОР»), допускается экстракция из 100 мкл 10% суспензии

³ Радиус ротора центрифуги «MiniSpin» «Eppendorf» составляет 6 см. При использовании роторов большего размера необходимо уменьшить обороты при центрифугировании, при использовании роторов меньшего радиуса – увеличивать. Например, при использовании ротора с радиусом 9 см необходимо снизить обороты до 3100 об./мин.

образца – в таком случае перед экстракцией суспензию необходимо центрифугировать при 2000 об./мин 5-10 мин.

На усмотрение ветеринарного врача допускается исследование других видов биоматериала.

7. Проведение анализа

Исследование с помощью набора реагентов «ПЦР-Ф-АЧС-ФАКТОР» состоит из четырех этапов:

- экстракция НК (на этом этапе дополнительно используют реактивы для экстракции, например набор «ДНК/РНК-С-ФАКТОР»);
- проведение ПЦР;
- анализ продуктов амплификации методом электрофореза (на этом этапе дополнительно используют набор реагентов для электрофоретического анализа, например набор «ФОРЕЗ-ФАКТОР»);
- учет результатов анализа.

7.1. Экстракция (выделение) НК из исследуемых проб

Отобрать необходимое количество одноразовых пробирок объемом 1,5 мл, включая отрицательный контроль выделения. Внести во все пробирки с исследуемыми образцами, включая пробирку для **ОКО**, по 10 мкл **ВКО Т1**.

Внести исследуемые пробы в объеме согласно инструкции к набору для выделения НК, в пробирку отрицательного контроля выделения вместо исследуемой пробы внести **ОКО⁴** (**пробирку обозначить как ВК-**).

Выделять ДНК из анализируемых и контрольных образцов согласно протоколу инструкции производителя набора для выделения НК.

Выделенную ДНК можно хранить в течение одной недели при температуре от 2°C до 8°C или в течение года при температуре не выше минус 16°C.

7.2. Подготовка и проведение ПЦР

Общий объем реакционной смеси – 25 мкл, объем ДНК-пробы – 10 мкл.

Успешное прохождение реакции контролируют использованием **ПКО ASFV** и **ДНК буфера**.

В отдельной пробирке смешать компоненты набора реагентов из расчета на каждую реакцию⁵:

⁴ Вместо ОКО допускается использование физиологического раствора, ТЕ-буфера, дистиллированной воды. Реагенты должны быть чистыми и стерильными. Запрещается использовать забуференный физиологический раствор!

⁵ Объемы реагентов ПЦР СМЕСЬ ASFV и TAQ POLYMERASE на различное количество образцов приведены в Приложении 1

- 15 мкл **ПЦР СМЕСЬ ASFV**;
- 0,3 мкл **TAQ POLYMERASE**

Перемешать смесь на вортексе (без вспенивания) и сбросить капли кратковременным центрифугированием.

Отобрать необходимое количество пробирок для амплификации ДНК исследуемых и контрольных проб. Внести по 15 мкл приготовленной реакционной смеси.

В случае использования амплификаторов без подогревающейся крышки (например, «Терцик», «ДНК технология») сверху в пробирки внести по капле минерального масла для ПЦР (примерно 25 мкл).

Используя наконечники с фильтром в подготовленные пробирки (под масло или непосредственно на масло) внести:

- а) в пробирку отрицательного контроля ПЦР (**К-**) 10 мкл **ДНК буфера**;
- б) в ряд пробирок для исследуемых проб - в каждую внести по 10 мкл ДНК соответствующей пробы, полученной по п.7.1 (включая пробу **ВК-**);
- в) в пробирку положительный контроль ПЦР (**К+**) – 10 мкл **ПКО ASFV**.

Рекомендуется перед постановкой в амплификатор осадить капли со стенок пробирок кратким центрифугированием на вортексе (1-2 секунды). Установить пробирки в амплификатор. Режим термоциклирования приведен в Таблицах 3, 4 и 5.

Таблица 3. Температурно-временной режим амплификации («Терцик», ДНК технология, ПЦР в пробирках объемом 0,5 мл)

№ п/п	Температурно-временной режим (точный)	Число циклов
1	95°C – 5 мин	1
2	95°C – 30 сек	42 ⁶
	62°C – 30 сек	
	72°C – 40 сек	
3	72°C – 2 мин	1

Таблица 4. Температурно-временной режим амплификации («ДТ 96», ДНК технология, ПЦР в пробирках объемом 0,2 мл)

№ п/п	Температурно-временной режим	Число циклов
1	95°C – 5 мин	1
	95°C – 15 сек	42 ⁷

⁶ При работе с продуктами свиного происхождения количество циклов следует увеличить до 45

⁷ При работе с продуктами свиного происхождения количество циклов следует увеличить до 45
12

2	60°C – 15 сек	
	72°C – 20 сек	
3	72°C – 1 мин	1

Таблица 5. Температурно-временной режим амплификации (Rotor-Gene 3000/6000, Corbett Research, Австралия, ПЦР в пробирках объемом 0,2 мл или 0,1 мл)

№ п/п	Температурно-временной режим	Число циклов
1	95°C – 5 мин	1
2	95°C – 20 сек	40
	62°C – 20 сек	
	72°C – 40 сек	
3	72°C – 1 мин	1

После окончания реакции переставить пробирки в специальный штатив и отправить в помещение для детекции продуктов ПЦР.

Пробы после амплификации можно хранить в течение 16 ч при комнатной температуре. Для длительного хранения требуется заморозка.

Анализ продуктов амплификации проводится методом электрофореза в агарозном геле.

7.3 Детекция продуктов ПЦР амплификации методом электрофореза в агарозном геле

Внимание: Работа с амплифицированными продуктами должна производиться в отдельной комнате сотрудником, не производящим манипуляций в чистых помещениях.

Поставить электрофорез исследуемых и контрольных проб согласно инструкции производителя набора для детекции амплифицированной ДНК методом электрофореза в агарозном геле.

8. Интерпретация результатов анализа

Учёт результатов ПЦР-анализа проводится по наличию или отсутствию на электрофореграмме специфических полос амплифицированной НК.

Результат считается достоверным в случае корректного прохождения положительных и отрицательных контролей амплификации и экстракции ДНК в соответствии с таблицей 6.

Таблица 6. Оценка результатов анализа.

Проба	Полоса электрофореграмме		Результат
	268 п.н.	500 п.н.	
	<i>АЧС</i>	<i>ВКО</i>	
ПКО К+	есть	есть	Реакции положительного и внутреннего контролей прошли успешно
ДНК буфер К-	нет	нет	Реакция прошла успешно
	есть	нет	Специфическая контаминация! ТРЕБУЕТСЯ повторная постановка! Рекомендуется поставить смывы
	нет	есть	Контаминация ВКО! ТРЕБУЕТСЯ повторная постановка! Рекомендуется поставить смывы
ОКО ВК-	нет	есть	Экстракция прошла успешно
	есть	есть или нет	Специфическая контаминация! ТРЕБУЕТСЯ повторная экстракция! Рекомендуется поставить смывы.
	нет	нет	Результат недостоверный, возможно присутствие ингибиторов. ТРЕБУЕТСЯ повторная экстракция!
Образцы	есть	есть или нет	Результат анализа положительный. <i>ДНК вируса АЧС обнаружена</i>
	нет	есть	Результат анализа отрицательный
	нет	нет	Результат не достоверный. ТРЕБУЕТСЯ повторная экстракция!

В случае, если в ВК- отсутствует полоса ВКО, а в К+ и исследуемых образцах полоса ВКО присутствует – результаты можно считать достоверными. Также в случае полоса ВКО в К+ отсутствует, а в ВК- и образцах присутствует – результаты можно считать достоверными.

ВНИМАНИЕ! При получении сомнительных результатов, а также при появлении любого значения Ct для отрицательного контроля этапа ПЦР К- (на любом из каналов) рекомендуется исследование смывов с поверхностей в лаборатории для исключения риска внутрилабораторной контаминации. Смывы с лабораторных поверхностей и оборудования используют в качестве матрицы для ПЦР (вносят в реакцию вместо исследуемых проб в количестве 10 мкл) – то есть смывы исследуют без экстракции. Появление любого значения Ct на любом из каналов свидетельствует о внутрилабораторной контаминации.

9. Условия транспортирования

Набор «ПЦР-Ф-АЧС-ФАКТОР» можно транспортировать всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 до 8 °С не более 5 суток.

10. Условия хранения

Хранение комплектов набора «ПЦР-Ф-АЧС-ФАКТОР» осуществляют при температуре от минус 18 до минус 20°C.

11. Срок годности

Срок годности набора реагентов «ПЦР-Ф-АЧС-ФАКТОР» 12 месяцев. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

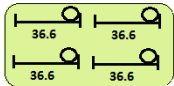
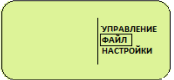
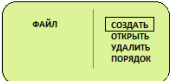
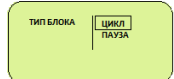
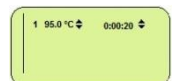
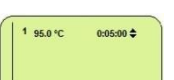
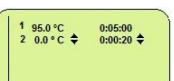
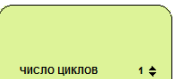
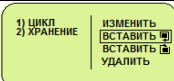
Приложение 1. Приготовление реакционной смеси

Количество реакций	Объем ПЦР ASFV, мкл	Объем TAQ POLYMERASE, мкл
3	45	0,9
4	60	1,2
5	75	1,5
6	90	1,8
7	105	2,1
8	120	2,4
9	135	2,7
10	150	3
15	225	4,5
20	300	6
25	375	7,5
30	450	9
35	525	10,5
40	600	12
45	675	13,5
50	750	15
55	825	16,5

Приложение 2. Порядок работы на амплификаторе «Терцик»

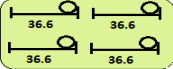
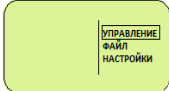
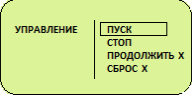
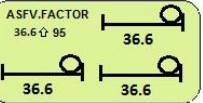
Работа с прибором осуществляется с помощью меню. Первоначально необходимо создать программу ASFV.FACTOR согласно алгоритму, приведенному в Таблице 6. При последующих запусках прибора достаточно выбрать сохраненную программу из памяти прибора (Таблица 7).

Таблица 7. Программирование амплификатора «Терцик»

№	Содержание индикатора	Используемые кнопки	Действие
1			Нажать «ПРИНЯТЬ» для перехода к меню
2			Выбрать «ФАЙЛ»
			Принять
3			Выбрать «Создать»
			Принять
4			Выбрать «Цикл»
			Принять
5			Установить температуру 95 °C
			Принять
6			Установить время 5 минут
			Принять
7			Принять
8			Установить число циклов, равное 1
			Принять
9			Выбрать «Вставить после»
			Принять

№	Содержание индикатора	Используемые кнопки	Действие
10			Выбрать «Цикл»
			Принять
11			Установить в первой строке температуру 95 °С, время 30 сек; во второй – 58 °С, 30 сек; в третьей 72 °С, 30 сек
			Принять
12			Установить число циклов, равное 45
			Принять
13			Нажать «назад»
14			Выбрать «ТОЧНЫЙ»
			Принять
15			Установить объем, равный 50 МКЛ
			Назад
16			Выбрать «ДРУГОЕ ИМЯ»
			Принять
17	В открывшемся окне набрать по буквам название «ASFV.FACTOR» и нажмите на кнопку назад.		
18			Выбрать «ASFV.FACTOR»
			Принять

Таблица 7. Запуск амплификатора «Терцик»

№	Содержание индикатора	Используемые кнопки	Действие
1			Нажать на “ПРИНЯТЬ” для перехода к меню
2			Выбрать “УПРАВЛЕНИЕ”
			Принять
3			Выбрать “ПУСК”
			Принять
4			Выбрать программу ASFV.FACTOR
			Принять
5			Выбрать реакционный блок (например, первый)
			Принять
6			Установить действительный объем смеси
			Принять
7		Программа ASFV.FACTOR начала выполняться в первом блоке	

Приложение 3. Лист вносимых изменений

Редакция	Место вносимых изменений	Суть вносимых изменений
Версия 1.1 от 20.11.2017	Пункт 7.2. Подготовка образцов к проведению ПЦР	Добавлена таблица Температурно-временной режим амплификации (Rotor-Gene 3000/6000, Corbett Research, Австралия, ПЦР в пробирках объемом 0,2 мл)
Версия 1.2 от 05.12.2017	Таблица: Температурно-временной режим амплификации (Rotor-Gene 3000/6000, Corbett Research, Австралия, ПЦР в пробирках объемом 0,2 мл)	Изменено название: Температурно-временной режим амплификации (Rotor-Gene 3000/6000, Corbett Research, Австралия, ПЦР в пробирках объемом 0,2 или 0,1 мл)
Версия 1.3 от 26.05.2021	стр. 5, стр. 10	Добавлены сноски, поясняющие, что вместо ОКО допускается использовать физраствор, ТЕ-буфер, дистиллированную воду
Версия 1.4 от 28.12.2021	По тексту	Изменено название ВКО
Версия 1.5 от 24.02.2022	По тексту п. 6.2. Подготовка исследуемых проб	Расширен список исследуемого биоматериала. Отредактированы рекомендации по пробоподготовке биоматериала
Версия 1.6 от 19.04.2022	Раздел 6. Взятие и обработка материала, транспортирование и хранение проб	Добавлен материал для исследования: трубчатая кость
Версия 1.7 от 29.04.2022	Раздел 6. Взятие и обработка материала, транспортирование и хранение проб	Добавлено: на усмотрение ветеринарного врача допускается исследование других видов биоматериала

По вопросам качества набора реагентов «ПЦР-Ф-АЧС-ФАКТОР» или по вопросам приобретения тест-систем нашего производства, просьба обращаться в ООО «ВЕТ ФАКТОР» по адресу:

108840, Россия, г. Москва, г. Троицк, ул. Промышленная д.2

Тел: 8 (499) 271-71-26, добавочный 243

Email: vet@faktor.ru