



## **ИНСТРУКЦИЯ**

**по применению набора реагентов «ПЦР-Ф-КЧС-ФАКТОР»  
для выявления РНК вируса классической чумы свиней (Classical swine fever  
virus) в биологическом материале и продуктах свиного происхождения  
методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-  
ПЦР) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в  
агарозном геле**

21.10.60-359-51062356-2022

Для диагностики *in vitro*

## Содержание

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Список сокращений .....                                                               | 3  |
| 1. Назначение .....                                                                   | 4  |
| 2. Характеристика набора .....                                                        | 4  |
| 2.1 Принцип действия .....                                                            | 4  |
| 2.2 Состав набора .....                                                               | 4  |
| 3. Аналитические характеристики .....                                                 | 6  |
| 4. Меры предосторожности .....                                                        | 6  |
| 5. Материалы и оборудование .....                                                     | 7  |
| 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 .....                                                           | 10 |
| 7.1. Экстракция (выделение) НК из исследуемых проб .....                              | 10 |
| 7.2. Подготовка и проведение ОТ-ПЦР .....                                             | 11 |
| 7.3. Детекция продуктов ПЦР амплификации методом электрофореза в агарозном геле ..... | 12 |
| 8. Интерпретация результатов анализа .....                                            | 12 |
| 9. Условия транспортирования .....                                                    | 13 |
| 10. Условия хранения .....                                                            | 14 |
| 11. Срок годности .....                                                               | 14 |
| Приложение 1. Расчет объемов реагентов на различное количество реакций .....          | 14 |
| Приложение 2. Лист вносимых изменений .....                                           | 15 |

## 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                   |
| ВКО               | внутренний контрольный образец                      |
| РНК               | рибонуклеиновая кислота                             |
| НК                | нуклеиновая кислота                                 |
| кДНК              | комплементарная ДНК                                 |
| ОТ-ПЦР<br>реакция | обратная транскрипция и полимеразная цепная реакция |
| СП                | санитарные правила                                  |
| МУ                | методические указания                               |

## **1. Назначение**

Набор реагентов предназначен для выявления РНК вируса классической чумы свиней (КЧС) в биологическом материале (мазки из носа и миндалин, фекалии, паренхиматозные органы, кровь, трубчатые кости), паталогическом материале и продуктах свиного происхождения методом обратной транскрипции и амплификации кДНК с последующей электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле.

## **2. Характеристика набора**

### **2.1 Принцип действия**

Набор реагентов основан на использовании двух последовательных реакций: обратной транскрипции вирусной РНК для получения первой цепи кДНК с одноцепочечной РНК-матрицы и полимеразной цепной реакции для амплификации фрагмента полученной кДНК матрицы. Обе реакции проводятся последовательно в одной ПЦР-пробирке (one-tube), что сокращает и упрощает процедуру анализа, снижает риск контаминации и ошибок при переносе кДНК в другую пробирку для ПЦР. Детекция продуктов ПЦР осуществляется методом электрофореза в агарозном геле.

### **2.2 Состав набора**

Набор состоит из комплекта реагентов для проведения мультиплексной ОТ-ПЦР (Комплект №1) и 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       |                   | Кол-во |
|---|-------------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------|-------------------|--------|
|   |                                                 |                                                | на 55<br>реакций | на 110<br>реакций |        |
| 1 | Смесь для проведения<br>ПЦР,<br><b>ПЦР ФКЧС</b> | прозрачная<br>жидкость<br>зеленого цвета       | 830              | 1660              | 1      |
| 2 | Смесь ферментов, <b>RT PCR<br/>ENZ.</b>         | прозрачная<br>бесцветная<br>вязкая<br>жидкость | 30               | 60                | 1      |
| 3 | Буфер для разведения<br>РНК, <b>РНК БУФЕР</b>   | прозрачная<br>бесцветная<br>жидкость           | 500              | 1000              | 1      |
| 4 | Минеральное масло<br><b>МИН. МАСЛО</b>          | прозрачная<br>бесцветная<br>вязкая<br>жидкость | 2000             | 2000              | 1 (2)  |

Таблица 2. Состав комплекта №2

| № | Состав комплекта                                                            | Описание                             | Объем, мкл       |                   | Кол-во |
|---|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------|-------------------|--------|
|   |                                                                             |                                      | на 55<br>реакций | на 110<br>реакций |        |
| 1 | Внутренний контрольный<br>образец,<br><b>ВКО М1</b>                         | прозрачная<br>бесцветная<br>жидкость | 550              | 1100              | 1      |
| 2 | Отрицательный<br>контрольный образец,<br><b>ОКО (ТЕ буфер) <sup>1</sup></b> | прозрачная<br>бесцветная<br>жидкость | 1500             | 2000              | 1      |
| 3 | Положительный<br>контрольный образец,<br><b>ПКО ФКЧС</b>                    | прозрачная<br>бесцветная<br>жидкость | 100              | 200               | 1      |

В набор реагентов не входят реактивы для выделения НК. Выделение РНК может проводиться, например, с помощью наборов на основе сорбционного метода, в состав которых входит силика или микроцентрифужные колонки,

---

<sup>1</sup> Вместо ОКО допускается использование физиологического раствора, ТЕ-буфера, дистиллированной воды. Реагенты должны быть чистыми и стерильными. Запрещается использовать забуференный физиологический раствор!

наборов на основе фенол-хлороформной экстракции и т.п. Рекомендуется использовать набор «ДНК/РНК-С-ФАКТОР» либо аналогичный.

В набор реагентов 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 в отношении НК других микроорганизмов: вирусов гриппа А, АЧС, возбудителя болезни Ауески, возбудителя парвовирусной и ротавирусной инфекций, бактерий *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria welshimeri*, *Listeria grayi*.

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» и с требованиями Приказа №580 Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 29.09.2020 г. «Об утверждении ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов классической чумы свиней».

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 рабочие реагенты и расходные материалы должны быть строго стационарными. Запрещается их перенос из одной зоны в другую.

Процесс исследования является строго односторонним, работу следует начинать в зоне подготовки материала, продолжать в зоне экстракции нуклеиновых кислот, затем в зоне амплификации. Запрещается возвращать образцы в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса. Работать только в одноразовых перчатках, использовать и менять при каждой операции одноразовые наконечники с аэрозольным барьером.

Одноразовую пластиковую посуду (пробирки, наконечники) сбрасывать 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 РНК из исследуемых проб:**

- Настольный бокс с бактерицидной лампой или стерильный ламинарный шкаф (например, «БАВп-«Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия);
- Твёрдотельный 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 «ТЭТА-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 и без (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 РНК (см. пункт 2.2).

**Для зоны проведения ОТ-ПЦР анализа:**

- Амплификатор (например «Терцик», ДНК-Технология).
- ПЦР-бокс (например, «БАВ-ПЦР-«Ламинар-С», Ламинарные системы, Россия).
- Микроцентрифуга-вортекс (например «ТЭТА-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 0,5 и 1,5 мл (например, «Ахуген», США);
- Штативы для микропробирок на 0,5 и 1,5-2,0 мл (например, «SSI», США);
- Перчатки медицинские неопудренные латексные;
- Халат лабораторный.

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

#### **Для зоны электрофоретического анализа**

- Реактивы для проведения электрофореза в агарозном геле по 2.2
- 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»);
- Видеосистема 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 (легкие, миндалины, селезенка, трахея, воздухоносные мешки, кишечник), трубчатые кости отбирают в стерильный контейнер.
- Лимфоузлы берут на исследование целиком.
- Фекалии весом 5 г отбирают в стерильный пластиковый контейнер.
- Продукты свиного происхождения (куски свинины, фарш, мясные полуфабрикаты) отбирают в стерильные контейнеры.

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 клеток используют для выделения РНК без предварительной подготовки.

Для получения плазмы пробирку с цельной кровью центрифугируют в течение 10 мин при 1000 g (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 600–1600 g (3000 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.

Из фекалий (1-5 г) готовят 10% суспензию на стерильном физиологическом растворе. Взвесь фекалий декантируют в течение 5-10 минут. Отбирают 1 мл надосадочной жидкости и переносят в чистую пробирку 1,5 мл, центрифугируют при 5000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, в течение 5 мин. Экстракцию РНК из осветленного экстракта фекалий проводят по возможности, сразу. При необходимости хранения экстракт замораживают.

Исследуемые пробы тканей, органов и продуктов свиного происхождения (небольшие кусочки до 1 г весом) гомогенизируют с использованием стерильных фарфоровых ступок и пестиков или автоматических гомогенизаторов. Затем готовят 10% суспензию на стерильном физиологическом растворе или фосфатном буфере. Суспензию переносят в пробирку объемом 1,5 мл и центрифугируют при 600-1200 g (2000 об./мин) в течение 5-10 мин. Аликвоту надосадочной жидкости (0,1 мл) используют для экстракции РНК.

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

*На усмотрение ветеринарного врача допускается исследование других видов биоматериала.*

## **7. Проведение анализа**

Анализ с помощью набора реагентов «ПЦР-Ф-КЧС-ФАКТОР» методом ОТ-ПЦР состоит из трех этапов:

- экстракция НК на этом этапе дополнительно используют реактивы для экстракции, например набор «ДНК/РНК-С-ФАКТОР»);
- проведение реакции ОТ-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, включая пробирку для **ОКО**, по 10 мкл **ВКО М1**.

Внести исследуемые пробы в объеме согласно инструкции к набору для выделения НК, в пробирку отрицательного контроля выделения вместо исследуемой пробы внести **ОКО<sup>2</sup> (пробирку обозначить как ВК-)**.

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

Выделенную РНК можно хранить до 3 часов при температуре от 2°C до 8°C или в течение месяца при температуре не выше минус 70°C.

## 7.2. Подготовка и проведение ОТ-ПЦР

**Общий объем реакционной смеси - 25 мкл, объем НК-пробы - 10 мкл.**

Успешное прохождение реакции контролируют использованием **ПКО ФКЧС, ВКО М1 и ДНК Буфера**.

**Примечание.** Допускается размораживание реагентов из набора перед работой при температуре не выше 40°C (с использованием термостата). **Прогревание пробирки RT PCR ENZ категорически запрещено.**

В отдельной пробирке смешать следующие компоненты набора из расчета на каждую реакцию:

- 15 мкл **ПЦР ФКЧС**
- 0,5 мкл **RT PCR ENZ**.

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

Расчет объемов реагентов на различное количество реакций указан в Приложении 1.

Отобрать необходимое количество пробирок исследуемых и контрольных проб для проведения ОТ-ПЦР. Внести по 15 мкл приготовленной реакционной смеси.

В случае использования амплификаторов без нагрева крышек пробирок («Терцик», ДНК технология) сверху добавить 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 НК соответствующей пробы, полученной по п.7.1 (включая пробу **ВК-**);
- в) в пробирку положительный контроль ПЦР (**К+**) – 10 мкл **ПКО ФКЧС**.

---

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

Рекомендуется перед постановкой в амплификатор осадить капли со стенок пробирок кратким центрифугированием на вортксе (1-2 секунды). Установить пробирки в амплификатор. Режим термоциклирования приведен в Таблице 3.

Таблица 3. Температурно-временной режим амплификации (Терцик, ДНК технология).

| № п/п | Температурно-временной режим | Число циклов |
|-------|------------------------------|--------------|
| 1     | 50°C – 25 мин                | 1            |
| 2     | 95°C – 5 мин                 | 1            |
| 3     | 95°C – 15 сек                | 45           |
|       | 60°C – 20 сек                |              |
|       | 72 °C – 20 сек               |              |
| 4     | 10°C                         | Хранение     |

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 НК методом гель-электрофореза

## 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 НК в соответствии с таблицей 4.

Таблица 4. Оценка результатов анализа.

| Проба               | Полоса на электрофореграмме |              | Результат                                                                                         |
|---------------------|-----------------------------|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     | 400 п.н.                    | 600 п.н.     |                                                                                                   |
|                     | <i>КЧС</i>                  | <i>ВКО</i>   |                                                                                                   |
| <b>ПКО К+</b>       | есть                        | есть         | Реакции внутреннего и положительного контролей <b>прошли успешно</b>                              |
| <b>РНК буфер К-</b> | нет                         | нет          | Реакция <b>прошла успешно</b>                                                                     |
|                     | есть                        | нет          | Специфическая контаминация! <b>ТРЕБУЕТСЯ повторная постановка!</b> Рекомендуется поставить смывы  |
|                     | нет                         | есть         | Контаминация ВКО! <b>ТРЕБУЕТСЯ повторная постановка!</b> Рекомендуется поставить смывы            |
| <b>ОКО ВК-</b>      | нет                         | есть         | Экстракция <b>прошла успешно</b>                                                                  |
|                     | есть                        | есть или нет | Специфическая контаминация! <b>ТРЕБУЕТСЯ повторная экстракция!</b> Рекомендуется поставить смывы. |
|                     | нет                         | нет          | Результат недостоверный, возможно присутствие ингибиторов. <b>ТРЕБУЕТСЯ повторная экстракция!</b> |
| <b>Образцы</b>      | есть                        | есть или нет | Результат анализа <b>положительный. РНК вируса КЧС обнаружена</b>                                 |
|                     | нет                         | есть         | Результат анализа <b>отрицательный</b>                                                            |
|                     | нет                         | нет          | Результат не достоверный. <b>ТРЕБУЕТСЯ повторная экстракция!</b>                                  |

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- образцах присутствует – результаты можно считать достоверными.

**ВНИМАНИЕ!** При получении сомнительных результатов, а также при появлении любого значения *St* 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 *St* на любом из каналов свидетельствует о внутрилабораторной контаминации.

## 9. Условия транспортирования

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

## 10. Условия хранения

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

## 11. Срок годности

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

### Приложение 1. Расчет объемов реагентов на различное количество реакций

| Количество реакций | Объем ПЦР ФКЧС, мкл | Объем RT PCR ENZ, мкл |
|--------------------|---------------------|-----------------------|
| 5                  | 75                  | 2,5                   |
| 10                 | 150                 | 5,0                   |
| 15                 | 225                 | 7,5                   |
| 19                 | 285                 | 9,5                   |
| 23                 | 345                 | 11,5                  |
| 27                 | 405                 | 13,5                  |
| 31                 | 465                 | 15,5                  |
| 35                 | 525                 | 17,5                  |
| 39                 | 585                 | 19,5                  |
| 43                 | 645                 | 21,5                  |
| 47                 | 705                 | 23,5                  |
| 51                 | 765                 | 25,5                  |
| 55                 | 825                 | 27,5                  |
| 59                 | 885                 | 29,5                  |
| 63                 | 945                 | 31,5                  |
| 67                 | 1005                | 33,5                  |
| 71                 | 1065                | 35,5                  |
| 75                 | 1125                | 37,5                  |
| 79                 | 1185                | 39,5                  |
| 83                 | 1245                | 41,5                  |
| 87                 | 1305                | 43,5                  |
| 91                 | 1365                | 45,5                  |

## Приложение 2. Лист вносимых изменений

| Редакция                 | Место вносимых изменений                                                  | Суть вносимых изменений                                                                                           |
|--------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Версия 1.1 от 24.03.2020 | 7.2. Подготовка и проведение ОТ-ПЦР                                       | Увеличена температура отжига                                                                                      |
| Версия 1.2 от 26.05.2021 | стр. 5, стр. 10                                                           | Добавлены сноски, поясняющие, что вместо ОКО допускается использовать физраствор, ТЕ-буфер, дистиллированную воду |
| Версия 1.3 от 28.12.2021 | По тексту                                                                 | Изменено название ВКО                                                                                             |
| Версия 1.4 от 24.02.2022 | п. 6.2. Подготовка исследуемых проб                                       | Отредактированы рекомендации по пробоподготовке биоматериала                                                      |
| Версия 1.5 от 19.04.2022 | Раздел 6. Взятие и обработка материала, транспортирование и хранение проб | Добавлен материал для исследования: трубчатая кость                                                               |
| Версия 1.6 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-КЧС-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](mailto:vet@faktor.ru)