

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека



В.И.Покровский

« 16 » 2012 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики

Основаны на методических указаниях «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» МУ 1.3.2569-09, Москва, 2009.

ПРАВИЛА ПОЛУЧЕНИЯ И ПОДГОТОВКИ МАТЕРИАЛА ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ

1. Осуществлять взятие клинического материала, строго следуя инструкции, только стерильными одноразовыми инструментами в стерильные одноразовые флаконы, пробирки, контейнеры. Работать в одноразовых перчатках.
2. Взятие клинического материала должно производиться в пробирки с транспортной средой, предоставляемой фирмой-производителем наборов реагентов (в случаях, где использование транспортной среды является необходимым). Недопустимо использование транспортной среды других фирм-производителей.
3. Сразу после взятия плотно закрывать пробирки, флаконы с клиническим материалом, не касаясь их внутренней поверхности и внутренней поверхности крышек.
4. При переносе клинического материала из пробирок, флаконов в новые использовать только отдельные одноразовые стерильные наконечники с аэрозольными барьерами.
5. При работе с клиническим материалом, открывая пробирки, флаконы, не производить резких движений и не допускать разбрызгиваний и расплескиваний, что может привести к контаминации проб и рабочих поверхностей.
6. Строго соблюдать правила хранения и транспортирования клинических проб. Охлаждающие элементы перед транспортированием клинического материала замораживать до необходимой температуры.
7. При работах по выделению и очистке РНК из клинического материала использовать расходные материалы (пластиковые пробирки и наконечники) только с маркировкой «DNase-, RNase-free».

МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРЕДОБРАБОТКИ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ПЦР-ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалы:

1. Одноразовые полипропиленовые микроцентрифужные пробирки с завинчивающимися или плотно закрывающимися крышками объемом 1,5 мл (Ахуген (США), кат. номера ООО «ИнтерЛабСервис»: МСТ-150-С, ST-150-SS-С-S).
2. Одноразовые полипропиленовые пробирки с завинчивающимися крышками объемом 50 мл (Ахуген (США), кат. номер ООО «ИнтерЛабСервис»: SCT-50ML-25-S).
3. Пластиковый контейнер на 60 мл (кат. номера ООО «ИнтерЛабСервис»: ИЛС-КП-60-С и ИЛС-КПЛ-60-С).
4. Пробирки с ЭДТА-К3, 6,0 мл 13x100 мм (Green Cross (Корея), кат. номер ООО «ИнтерЛабСервис»: GV0426).
5. Зонд гинекологический универсальный (полимерный, ворсистый, для взятия материала из уретры и цервикального канала) (Швеция, кат. номер ООО «ИнтерЛабСервис»: ЗГУ-ЦМ).
6. Цитощетка цервикальная (кат. номер ООО «ИнтерЛабСервис»: ЦЩ).
7. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 200 и до 1000 мкл (Ахуген (США), кат. номера ООО «ИнтерЛабСервис»: TF-200, TF-200-R-S, TF-1000, TF-1000-R-S).
8. Штативы для микропробирок объемом 1,5 мл (кат. номер ООО «ИнтерЛабСервис»: RA-7215), штативы для наконечников.
9. Емкость с дезинфицирующим раствором.
10. Халат и одноразовые резиновые перчатки.

Оборудование:

1. Центрифуга лабораторная настольная (Россия, кат. номер ООО «ИнтерЛабСервис»: ЦЛМН-Р10-01).
2. Холодильник на 2–8 °С, на минус 20 °С и минус 70 °С.

Наименование клинического образца	ВИЧ ДНК	ВИЧ РНК	HCV, HBV, HDV, HGV	HAV, HEV	Трепонема pallidum	Neisseria gonorrhoeae Chlamydia trachomatis Trichomonas vaginalis Mycoplasma genitalium Mycoplasma hominis Ureaplasma spp.	Candida sp.	Gardnerella vaginalis	Lactobacillus spp.	HPV	CMV	HSV 1 и 2	HHV 6	EBV	VZV	Toxoplasma gondii
Соскоб из цервикального канала						•				•	•	•				
Соскоб из уретры						•					•	•				
Отделяемое влагалища						•	•	•								
Сперма, секрет простаты						•										
Соскоб с эрозивно-язвенных элементов					•							•			•	
Моча											•	•				
Амниотическая жидкость											•	•	•	•	•	•
Биоптат легких											•	•	•			•
Биоптат лимфатического узла					•								•			•
Биоптат печени			•	•												•
Биоптат ЖКТ											•					
Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ)							•				•		•			•
Кровь цельная	•										•	•	•	•	•	
Кровь периферическая (клетки)	•										•	•	•	•	•	
Кровь периферическая (плазма)		•	•	•							•			•	•	
Кровь пуповинная											•	•	•	•	•	•
Мазок из носоглотки																
Мазок из ротоглотки							•					•	•	•		
Мокрота							•				•					
Отделяемое конъюнктивы						•					•					
Плацента											•		•	•	•	•
Плевральная жидкость													•			•
Синовиальная жидкость						•										
Слюна											•	•	•	•	•	
Спинномозговая жидкость (СМЖ)					•						•	•	•	•	•	•
Фекалии				•												
Аутопсийный материал											•	•	•	•	•	•
Клещи																
Комары																
Вши																
Блохи																
Концентрированные образцы воды				•												

Наименование клинического образца	Rubella virus	Parvovirus B19	Chlamydia pneumoniae Mycoplasma pneumoniae	Pneumocystis carinii	Mycobacterium tuberculosis complex	Streptococcus spp.	Haemophilus spp.	Legionella sp.	Neisseria meningitidis A,B,C	Энтеровирус	Streptococcus pyogenes Cornebacterium diptheriae	Аденовирус	Аденовирус гр. F
Соскоб из цервикального канала													
Соскоб из уретры													
Отделяемое влагалища						•							
Сперма, секрет простаты													
Соскоб с эрозивно-язвенных элементов													
Моча					•								
Амниотическая жидкость	•	•								•		•	
Биоптат легких			•	•	•			•					
Биоптат лимфатического узла					•								
Биоптат печени													
Биоптат ЖКТ													
Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ)			•	•	•			•					
Кровь цельная		•								•			
Кровь периферическая (клетки)		•								•			
Кровь периферическая (плазма)	•	•								•			
Кровь пуповинная	•	•								•			
Мазок из носоглотки						•	•					•	
Мазок из ротоглотки	•	•	•			•	•	•			•	•	
Мокрота			•	•	•			•					
Отделяемое конъюнктивы												•	
Плацента	•	•											
Плевральная жидкость			•	•	•			•					
Синовиальная жидкость						•	•						
Слюна	•	•								•		•	
Спинномозговая жидкость (СМЖ)	•	•			•	•	•		•	•			
Фекалии													•
Аутопсийный материал	•	•						•					
Клещи													
Комары													
Вши													
Блохи													
Концентрированные образцы воды								•		•			•

ПОЛУЧЕНИЕ И ХРАНЕНИЕ МАТЕРИАЛА

КРОВЬ (ПЛАЗМА), СЫВОРОТКА КРОВИ

<p>Кровь забирать в пробирку: Кат. №: GV0312 - GV0439</p>	<p>Пробы крови (плазмы) используют при проведении качественных и количественных исследований, пробы сыворотки крови используют только при проведении качественных исследований с помощью МАНК.</p> <p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Для получения плазмы забор крови производят натошак или через 3 часа после приема пищи из локтевой вены одноразовой иглой (диаметр 0,8 – 1,1 мм) в специальную вакуумную систему (сиреневые крышки – 6% ЭДТА) или одноразовым шприцем в пластиковые пробирки с цитратом натрия (3,8%-ный раствор цитрата натрия в соотношении 1:9). Пробирку закрывают крышкой и аккуратно переворачивают несколько раз вверх дном, чтобы кровь в пробирке тщательно перемешалась с антикоагулянтом (в противном случае кровь свернется, и выделение ДНК/РНК станет невозможным).</p> <p>Гепарин в качестве антикоагулянта использовать нельзя!</p> <p>Для получения сыворотки забор крови проводят натошак из локтевой вены одноразовой иглой (диаметр 0,8 – 1,1 мм) в одноразовые пробирки без антикоагулянта.</p> <p><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала и предварительно обработанных проб</p> <p>Образцы цельной крови:</p> <ul style="list-style-type: none">- при температуре 20–25 °С — в течение 2 часов;- при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч с момента взятия материала для количественного определения нуклеиновых кислот; в течение 12 ч – для качественного определения нуклеиновых кислот; <p>Недопустимо замораживание образцов цельной крови!</p> <p>Образцы плазмы и сыворотки:</p> <ul style="list-style-type: none">- при температуре 2–8 °С — в течение 5 суток;- при температуре минус 20 °С — в течение года;- при температуре минус 70 °С — длительно. <p>Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала, поэтому образцы плазмы или сыворотки для длительного хранения желательно разлить небольшими (0,1 – 0,2 мл) порциями в отдельные стерильные пробирки объемом 1,5 мл или 2,0 мл.</p>
--	---

КЛИНИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ИЗ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ЖЕНЩИН

Для диагностики инфекций мочеполовой системы, в том числе ИППП, используют различный клинический материал – соскобное отделяемое или мазок со слизистых оболочек, мочу, секрет предстательной железы, сперму. Выбор клинического материала зависит от диагностической задачи и пола.

Условия взятия соскобов, мазков и отделяемого слизистых оболочек

Для взятия соскобного отделяемого и мазков используются специальные одноразовые зонды, зонды-тампоны, цитощетки. **Необходимо использовать только тот инструментарий, который рекомендован фирмой-производителем тест-систем!** Соскобы и мазки необходимо помещать в пробирку с транспортной средой, рекомендованной производителем наборов реагентов.

Условия хранения и перевозки материала

Определяются инструкцией к транспортной среде и набору реагентов для выделения и очистки нуклеиновых кислот.

При использовании

Транспортной среды с муколитиком (ТСМ) кат. № 952 и 953

- при комнатной температуре 18–25 °С — в течение 28 суток;
- при температуре 2–8 °С — в течение 3 месяцев;
- при температуре минус 20 °С и ниже — длительно.

При использовании

Транспортной среды для мазков кат. № 956 и 987

- при комнатной температуре 18–25 °С — в течение 48 часов;
- при температуре 2–8 °С — в течение 7 суток;
- при температуре минус 20 °С и ниже — длительно.

При использовании

Транспортной среды ТС-ЭДЭМ из набора реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом «ЭДЭМ» (кат. № K2-17-100)

- при комнатной температуре 18–25 °С — в течение 48 часов;
- при температуре 2–8 °С — в течение 14 суток;
- при температуре минус 20 °С и ниже — длительно.

Тип клинического материала определяется диагностической задачей

Тип клинического материала	Диагностическая задача	Выявляемые микроорганизмы
Соскобное отделяемое цервикального канала	Цервикальный скрининг с использованием ВПЧ-теста	ВПЧ высокого онкогенного риска
	Этиологическая диагностика цервицита. Мониторинг а/б терапии цервицита.	ИППП: <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> , <i>Treponema pallidum</i> , <i>HSV II</i> , а также УПМ*: <i>Ureaplasma spp</i> , <i>Streptococcus spp</i> , <i>Staphylococcus spp</i> и др.
Соскобное отделяемое эрозивно-язвенных элементов	Дифференциальная диагностика инфекций, вызывающих эрозивно-язвенные поражения	<i>Treponema pallidum</i> , <i>HSV I/II</i>
Соскоб эпителия с кондиломатозных образований	Дифференциальная диагностика инфекций, вызывающих кондиломатозные образования	ВПЧ низкого онкогенного риска
Отделяемое или мазок из влагалища	Скрининг на ВПЧ высокого онкогенного риска (для женщин старше 25–30 лет)	ВПЧ высокого онкогенного риска
	Скрининг на ИППП Диагностика бактериального вагиноза, кандидоза, вагинита	ИППП: <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> УПМ*, связанные с бактериальным вагинозом (<i>Lactobacillus spp.</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> , <i>Atopobium vaginae</i> и др.), вагинальным кандидозом (<i>Candida albicans/glabrata/krusei</i>) или неспецифическим вагинитом (<i>Streptococcus spp.</i> , <i>Staphylococcus spp.</i> , <i>E.coli</i> и др.)
Моча	Дифференциальная диагностика уретрита, цистита	ИППП: <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> УПМ*: <i>E.coli</i> , <i>Streptococcus spp</i> , <i>Staphylococcus spp</i> , <i>Klebsiella spp</i> , <i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Ureaplasma spp</i> , и др.

* условно-патогенные микроорганизмы

СОСКОБНОЕ ОТДЕЛЯЕМОЕ ЦЕРВИКАЛЬНОГО КАНАЛА

<p>Цитощетка Кат. №: ЦЩ</p>	
<p>Материал забирать в пробирку:</p> <p>ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА: Транспортная среда муколитиком (ТСМ): кат. № 953 Транспортная среда для мазков: кат. № 987 Транспортная среда ТС-ЭДЭМ из набора реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом «ЭДЭМ» кат. № K2-17-100</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Доступ к цервикальному каналу обеспечивают с помощью одноразового или многоразового стерильного гинекологического зеркала. Взятие материала производят с помощью цервикальной цитощетки в пробирку со специальной транспортной средой с муколитиком «ТСМ».</p> <p>Для исследования на ВПЧ необходимо достаточное количество эпителиальных клеток, т. к. вирус является внутриклеточным агентом. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде цервикальной слизи и крови. В ряде случаев возможно взятие материала с помощью универсального гинекологического зонда, однако при этом объем соскобного отделяемого будет меньше, а количество клеток может быть недостаточным.</p> <p>Удаляют слизь и отделяемое влагалища с поверхности шейки матки стерильным марлевым тампоном, вводят рабочую часть цитощетки в цервикальный канал и делают два-три полных оборота по часовой стрелке. Извлекают цитощетку и помещают ее рабочую часть, содержащую взятый материал, в пробирку с транспортной средой. Рабочую часть цитощетки обламывают не более 1 см пластиковой основы цитощетки и оставляют в пробирке с транспортной средой.</p> <p>В ряде случаев – у беременных женщин, у молодых нерожавших женщин – когда не требуется скрининговая диагностика ВПЧ-инфекции – для взятия материала из цервикального канала можно использовать универсальный зонд. Материал следует забирать так же, как описано выше, только обламывать универсальный зонд необходимо по специальной насечке. Для этого нужно опустить рабочую часть зонда в пробирку с транспортной средой и, когда зонд упрется в дно пробирки, дополнительным усилием согнуть тонкую часть зонда погрузив в пробирку его расширенную часть до насечки, затем обломить и оставить зонд в пробирке. Следует помнить, что ввиду маленькой площади поверхности универсального зонда, им не всегда удается забрать достаточное количество клеток с поверхности слизистой.</p> <p>В случае невозможности обломить рабочую часть цитощетки или универсального зонда, следует максимально полно смыть клинический материал с их рабочей части в пробирку с транспортной средой, прижав ее к внутренней стороне пробирки и вращая по 5–10 раз по часовой и против часовой стрелки.</p> <p>Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части цитощетки или универсального зонда – это может привести к перекрестной контаминации клиническим материалом и, как следствие, получению ложно-положительных результатов.</p> <p>Перед проведением процедуры экстракции нуклеиновых кислот тщательно перемешивают содержимое пробирки на вортексе для растворения слизи и осаждают капли материала со стенок пробирки и внутренней части крышки центрифугированием (1500–3000 об/мин в течение 5 секунд), после чего аккуратно перемешивают содержимое пробирки с помощью пипетирования.</p> <p>Предварительная обработка проб не требуется.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>

СОСКОБНОЕ ОТДЕЛЯЕМОЕ ИЛИ МАЗОК ИЗ ВЛАГАЛИЩА

<p>Зонд Кат. №: ЗГУ-ЦМ</p> <p>Зонд-тампон Кат. №: 300202</p>	
<p>Материал забирать в пробирку:</p>	
<p>ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:</p> <p>Транспортная среда муколитиком (ТСМ): кат. № 953</p> <p>Транспортная среда для мазков: кат. № 987</p> <p>Транспортная среда ТС-ЭДЭМ из набора реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом «ЭДЭМ» кат. № К2-17-100</p>	<p>Взятие материала</p> <p>Использование гинекологического зеркала может ограничивать доступ к поверхности боковых стенок влагалища, откуда следует брать отделяемое.</p> <p>Взятие материала производят с помощью зонда-тампона или универсального зонда в пробирку с транспортной средой. Материал из влагалища берут в достаточном количестве. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде слизи и крови.</p> <p>Рабочей частью зонда-тампона вращательным движением проводят по поверхности боковых стенок влагалища, максимально полно собирая отделяемое.</p> <p>Переносят зонд-тампон в пробирку с транспортной средой. Рабочую часть зонда-тампона, содержащую исследуемый материал, обламывают и оставляют в пробирке с транспортной средой.</p> <p>Недопустимо использование ножниц для обрезания рабочей части зонда-тампона!</p> <p>В случае использования транспортной среды с муколитиком («ТСМ») ее цвет может измениться за счет изменения рН (при кислом рН отделяемого влагалища – смотреть рисунок).</p> <p>Пробирку плотно закрывают крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, и маркируют. Перед проведением процедуры экстракции нуклеиновых кислот осаждают капли материала со стенок пробирки и внутренней части крышки центрифугированием (1500–3000 об/мин в течение 5 секунд), после чего аккуратно перемешивают содержимое пробирки на вортексе, избегая разбрызгивания и попадания материала на внутреннюю часть крышки.</p> <p><i>Предварительная обработка проб не требуется.</i></p>

МОЧА

<p>Материал забирать контейнер: Кат. №: ИЛС-КП-60-С</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>в Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15–25 мл в специальный сухой стерильный флакон или контейнер на 50-60 мл. Сбор мочи проводится после тщательного туалета наружных половых органов, чтобы в мочу не попали выделения из них. Желательно закладывать тампон во влагалище перед сбором материала для предупреждения контаминации мочи и отделяемым из влагалища. Также не следует производить сбор мочи во время менструации.</p> <p><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала и предварительно обработанных проб</p> <p>Нативные и предварительно обработанные образцы мочи: при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p> <p>Материал забирать в контейнер: Кат. №: ИЛС-КП-60-С</p>
--	---

КЛИНИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ИЗ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА МУЖЧИН

Тип клинического материала определяется диагностической задачей

Тип клинического материала	Диагностическая задача	Выявляемые микроорганизмы
Соскобное отделяемое уретры	Скрининг на ИППП, этиологическая диагностика уретрита, баланопостита	ИППП: <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> ,
Соскобное отделяемое крайней плоти головки полового члена	Мониторинг а/б терапии уретрита, баланопостита	УПМ: <i>Ureaplasma spp</i> , <i>Streptococcus spp</i> , <i>Staphylococcus spp</i> и др.
Тип клинического материала	Диагностическая задача	Выявляемые микроорганизмы
Моча	Скрининг на ИППП, этиологическая диагностика уретрита	
Соскобное отделяемое эрозивно-язвенных элементов	Дифференциальная диагностика инфекций, вызывающих эрозивно-язвенные поражения	<i>Treponema pallidum</i> , <i>HSV II</i>
Соскоб эпителия с новообразований головки полового члена, перианальной области	Дифференциальная диагностика инфекций, вызывающих кондиломатозные образования	ВПЧ низкого онкогенного риска
Секрет предстательной железы, сперма	Этиологическая диагностика бактериального простатита, диагностика мужского бесплодия	УПМ: <i>E.coli</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter spp</i> , <i>Acinetobacter spp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Ureaplasma spp</i> , <i>Streptococcus spp</i> , <i>Staphylococcus spp</i> и др. ИППП: <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> .

СОСКОБНОЕ ОТДЕЛЯЕМОЕ УРЕТРЫ МУЖЧИН

<p>Зонд Кат. №: ЗГУ-ЦМ</p>	
<p>Материал забирать пробирку:</p> <p>ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА: Транспортная среда муколитиком (ТСМ): кат. № 953 Транспортная среда для мазков: кат. № 987 Транспортная среда ТС-ЭДЭМ из набора реагентов для экстракции ДНК экспресс-методом «ЭДЭМ» кат. № K2-17-100</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Перед взятием соскоба из уретры обрабатывают головку полового члена в области наружного отверстия уретры тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. Производят массаж уретры. При наличии свободно стекающих из уретры выделений удаляют их сухим тампоном. Вводят зонд в уретру на глубину 1–2 см. Несколькими вращательными движениями производят соскоб эпителиальных клеток и переносят зонд в пробирку с транспортной средой, обламывают и оставляют.</p> <p>В случае отсутствия насечки погружают рабочую часть зонда в среду и, прижав ее к внутренней стенке пробирки, вращают зонд 5–10 секунд, после чего зонд удаляют, а пробирку плотно закрывают. Следует помнить, что в этом случае значительная часть материала может не попасть в пробирку с транспортной средой и материал будет неадекватным для исследования.</p> <p>Недопустимо использование ножниц для обрезания рабочей части зонда!</p> <p>Пробирку плотно закрывают крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, и маркируют. Перед проведением процедуры экстракции нуклеиновых кислот осаждают капли материала со стенок пробирки и внутренней части крышки центрифугированием (1500-3000 об/мин в течение 5 секунд), после чего аккуратно перемешивают содержимое пробирки на вортексе, избегая разбрызгивания и попадания материала на внутреннюю часть крышки.</p> <p>Отделяемое забирают в достаточном количестве. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде слизи, крови и гноя.</p> <p style="text-align: center;">Предварительная обработка проб не требуется.</p>

МОЧА

<p>Материал забирать в контейнер: Кат. №: ИЛС-КП-60-С</p>	<p>Взятие материала</p> <p>При мочеиспускании необходимо полностью оттянув кожную складку, освободить наружное отверстие мочеиспускательного канала. Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15–25 мл в специальный сухой стерильный флакон на 50–60 мл.</p> <p style="text-align: center;">Требуется предварительная обработка проб.</p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала и предварительно обработанных проб</p> <p>Нативные и предварительно обработанные образцы мочи: при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
--	--

СЕКРЕТ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

<p>Материал забирать в пробирку: Кат. №: МСТ-200-С или контейнер Кат. №: ИЛС-КП-60-С</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Перед получением секрета простаты головку полового члена обрабатывают стерильным ватным тампоном. Секрет простаты забирают после предварительного массажа простаты через прямую кишку. Врач проводит массаж с надавливанием несколькими энергичными движениями от основания к верхушке. После окончания массажа предстательной железы ее секрет в количестве 0,5–1 мл собирают в одноразовую стерильную сухую пластиковую пробирку объемом 2 мл или стерильный сухой контейнер объемом 50–60 мл.</p> <p>Пробирку плотно закрывают крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, и маркируют.</p> <p style="text-align: center;"><i>Предварительная обработка проб не требуется.</i></p> <p>При невозможности получить секрет сразу после массажа простаты - собирают первую порцию мочи (в которой содержится секрет предстательной железы) в количестве 15–25 мл (см. правила забора мочи).</p> <p style="text-align: center;">Условия хранения материала:</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 часов; при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
---	--

СПЕРМА

<p>Материал забирать контейнер: Кат. №: ИЛС-КП-60-С</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Получение спермы осуществляют в специальный сухой стерильный контейнер на 50–60 мл.</p> <p style="text-align: center;"><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения материала:</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 часов; при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
--	---

ФЕКАЛИИ

<p>Материал забирать в контейнер: Кат. №: ИЛС-КПЛ-60-С</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Используют пробы фекалий массой (объемом) примерно 1–3 г (1–3 мл). Исследование мазков неинформативно из-за низкого содержания в них возбудителей. Пробу в количестве 1 г (примерно) отдельным наконечником с фильтром или одноразовыми лопатками переносят в специальный стерильный флакон.</p> <p><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала и предварительно обработанных проб</p> <p>Образцы нативных фекалий: при комнатной температуре — в течение 6 часов; при температуре 2–8 °С — в течение 3 суток.</p> <p>Фекальная суспензия с глицерином, бактериальная фракция и осветленный фекальный экстракт: при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p>
---	---

СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ (ЛИКВОР)

<p>Материал забирать в пробирку: Кат. №: МСТ-200-С</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Спинномозговую жидкость в количестве не менее 1 мл собирают, используя одноразовые иглы, в одноразовые пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.</p> <p><i>Предварительная обработка проб не требуется.</i> <i>При необходимости можно проводить концентрирование (см. стр. 27).</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала:</p> <p>при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
---	---

СЛЕЗНАЯ ЖИДКОСТЬ

<p>Материал забирать в пробирку: Кат. №: МСТ-200-С</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Слезную жидкость в количестве не менее 0,5 мл собирают, используя одноразовые пластиковые пипетки, в одноразовые стерильные пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл. Для усиления слезоотделения проводят провокацию слезоточивым веществом (обычно используют нашатырный спирт).</p> <p><i>Предварительная обработка проб не требуется.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала:</p> <p>при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
---	---

БИПСИЙНЫЙ И АУТОПСИЙНЫЙ МАТЕРИАЛ

<p>Материал забирать в пробирку:</p> <p>ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:</p> <p>Пробирки: кат. №: МСТ-200-С</p> <p>Транспортная среда: кат. № 956</p> <p>Пробирки расфасованной транспортной средой: кат. № 987</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Материал забирают из зоны предполагаемого местонахождения возбудителя инфекции, из поврежденной ткани или из пограничного с поврежденным местом участка.</p> <p>Кусочки ткани диаметром не более 5 мм помещают в одноразовые стерильные пробирки объемом 2 мл, содержащих соответствующую транспортную среду. Пробирку плотно закрывают. Макроаутоптат помещают в контейнер с физиологическим раствором или специальной транспортной средой.</p> <p><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала</p> <p>Образцы биопсийного и аутопсийного материала, предназначенного для выделения ДНК или РНК:</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 часов; при температуре 2–8 °С — в течение 3 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p>
--	---

ОТДЕЛЯЕМОЕ КОНЪЮНКТИВЫ

<p>Зонд-тампон Кат. №: 300202</p>	
<p>Материал забирать в пробирку: ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА: Пробирки: кат. №: МСТ-200-С Транспортная среда: кат. № 956 Пробирки с расфасованной транспортной средой: кат. № 987</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Материал забирают сухим стерильным ватным тампоном на пластиковой основе под местной анестезией (2 капли раствора декаина). Оттянув нижнее веко, вращающими движениями проводят зонд 4-5 раз по конъюнктиве, захватывая внешний и внутренний углы глаза.</p> <p>После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в одноразовую стерильную пробирку с защелкивающейся крышкой объемом 2 мл, содержащую соответствующую транспортную среду. Погрузив рабочую часть зонда в транспортную среду, аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части и оставляют рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой.</p> <p style="text-align: center;"><i>Предварительная обработка проб не требуется.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 часов; при температуре 2–8 °С — в течение 3 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p>

**КЛИНИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА
МАЗКИ ИЗ ПОЛОСТИ НОСА**

<p>Зонд-тампон Кат. №: 300202</p>	
<p>Материал забирать в пробирку: ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА: Пробирки: кат. №: МСТ-200-С Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков: кат. № 957 или 958 Пробирки с расфасованной транспортной средой: кат. № 959</p>	<p align="center">Взятие материала</p> <p>Мазки (слизь) берут сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе. Тампон вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2–3 см до нижней раковины. Затем тампон слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с защелкивающейся крышкой, содержащую соответствующую транспортную среду, и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой.</p> <p align="center">Предварительная обработка проб не требуется.</p> <p align="center">Условия хранения и перевозки материала:</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 ч; при температуре 2–8 °С — в течение 3 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.</p>

СМЫВЫ ИЗ ПОЛОСТИ НОСА

<p>Материал забирать в пробирку: Кат. №. SCT-10ML-S</p>	<p align="center">Взятие материала</p> <p>Взятие материала проводят в положении больного сидя с отклоненной назад головой путем введения с помощью одноразового шприца (зонда) теплого стерильного изотонического раствора натрия хлорида (3–5 мл) поочередно в каждый из носовых ходов. Промывную жидкость собирают через стерильную воронку в одну стерильную пробирку.</p> <p>Не допускается повторное использование воронки без предварительного обеззараживания паром под давлением.</p> <p align="center">Предварительная обработка проб не требуется.</p> <p align="center">Условия хранения материала:</p> <p>при температуре 2–8 °С — в течение 6 ч; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
--	---

МАЗКИ ИЗ РОТОГЛОТКИ

Зонд-тампон Кат. №: 300202	
Материал забирать в пробирку: ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА: Пробирки: кат. №: МСТ-200-С Транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков: кат. № 957 или 958 Пробирки с расфасованной транспортной средой: кат. № 959	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Мазки берут сухими стерильными ватными тампонами на пластиковой основе вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку со специальной транспортной средой и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 0,5 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой.</p> <p style="text-align: center;">Предварительная обработка проб не требуется.</p> <p style="text-align: center;">Условия хранения материала:</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 ч; при температуре 2–8 °С — в течение 3 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала</p>

СМЫВЫ ИЗ РОТОГЛОТКИ

Материал забирать в контейнер: Кат. №: ИЛС-КП-60-С	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Перед взятием смывов из ротоглотки проводят предварительное полоскание полости рта водой. После этого проводят тщательное полоскание ротоглотки в течение 10–15 с 25–40 мл изотонического раствора натрия хлорида. Жидкость собирают через стерильную воронку в стерильный флакон объемом 50–60 мл.</p> <p style="text-align: center;">Предварительная обработка проб не требуется.</p> <p style="text-align: center;">Условия хранения материала:</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 ч; при температуре 2–8 °С — в течение 3 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
---	---

МОКРОТА

<p>Материал забирать в контейнер:</p> <p>Кат. №: ИЛС-КП-60-С</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Взятие материала осуществляют в количестве не менее 1,0 мл в одноразовые градуированные стерильные флаконы с широким горлом и завинчивающимися крышками объемом не менее 50 мл.</p> <p><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала и предварительно обработанных проб:</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 часов; при температуре 2–8 °С — в течение 3 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
---	--

СЛЮНА

<p>Материал забирать в пробирку:</p> <p>Кат. №: МСТ-200-С</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Перед получением слюны проводят трехкратное полоскание полости рта физиологическим раствором. Слюну забирают в количестве не менее 1,0 мл в одноразовые стерильные пластиковые пробирки объемом 2 мл. Пробирку плотно закрывают крышкой.</p> <p><i>Предварительная обработка проб не требуется.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения материала:</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 ч; при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
---	---

БРОНХО-АЛЬВЕОЛЯРНЫЙ ЛАВАЖ ИЛИ ПРОМЫВНЫЕ ВОДЫ БРОНХОВ

<p>Материал забирать в пробирку:</p> <p>Кат. №: SCT-50ML-25-S</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Взятие материала осуществляют в одноразовые, плотно завинчивающиеся пробирки объемом 50 мл.</p> <p><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала и предварительно обработанных проб:</p> <p>при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание</p>
--	--

	материала.
--	------------

ПУНКТАТ БУБОНА

<p>Материал забирать в пробирку:</p> <p>ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:</p> <p>Пробирки: кат. №: МСТ-200-С</p> <p>Транспортная среда: кат. № 956</p> <p>Пробирки расфасованной транспортной средой: кат. № 987</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Взятие материала производят стерильным шприцем. Если бубон имеет сохранившуюся кожу (не вскрывшийся бубон), то ее протирают предварительно спиртом. Пункцию бубона производят как в его центре, так и на периферии. Из вскрывшегося бубона материал забирают в местах с сохраненной тканью, а также берут отделяемое бубона. Исследуемый материал в количестве 0,1–0,3 мл помещают в пробирку со специальной транспортной средой.</p> <p style="text-align: center;"><i>Предварительная обработка проб не требуется.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала:</p> <p>при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
--	---

МАТЕРИАЛ ИЗ ВЕЗИКУЛ И ПУСТУЛ

<p>Материал забирать в пробирку:</p> <p>ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА:</p> <p>Пробирки: кат. №: МСТ-200-С</p> <p>Транспортная среда: кат. № 956</p> <p>Пробирки расфасованной транспортной средой: кат. № 987</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Перед взятием материала кожные элементы очищают ватным тампоном, смоченным эфиром или спиртом, затем прокалывают их у основания стерильной иглой или тонким капилляром пастеровской пипетки. Для ускорения поступления материала элемент сверху надавливают пинцетом. Корку или верхнюю часть везикул отделяют от кожи иглой, скальпелем. Исследуемый материал помещают в пробирку с транспортной средой.</p> <p style="text-align: center;"><i>Предварительная обработка проб не требуется.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения материала:</p> <p>при комнатной температуре — в течение 6 часов; при температуре 2–8 °С — в течение 3 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 недели;</p>
--	---

средой: кат. № 987	при температуре минус 70 °С — длительно.
---------------------------	--

ОБРАЗЦЫ ИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

КЛЕЩИ, КОМАРЫ И ЭКТОПАРАЗИТЫ (ВШИ И БЛОХИ)

Материал забирать в пробирку: Кат. №: МСТ-150-С	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>После взятия и доставки материала в лабораторию, комаров, клещей, блох и вшей обрабатывают 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.</p> <p>Группировку проб осуществляют в соответствии с МУ 3.1.1027-01 «Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих — переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций». При исследовании на чуму в одну пробу включают по 20–30 (не более 50) блох или мелких клещей, вшей. Иксодовых клещей при исследовании на чуму и другие природно-очаговые инфекции исследуют отдельно по фазам развития и в одну пробу берут пивших самок не более трех, голодных — до 30; нифм пивших — до 15, голодных — до 50; личинок пивших — до 30. При исследовании на туляремию в одну пробу объединяют до 50 имаго иксодовых клещей, 50–100 нифм и 100–200 личинок. Блох, гамазовых клещей, вшей исследуют до 100 особей в пробе. 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.</p> <p><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала и предварительно обработанных проб</p> <p>Материал после разбора и формирования проб: при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца; при температуре минус 70 °С или в сосуде Дьюара с жидким азотом — длительно.</p> <p>Обработанный материал (после гомогенизации и осветления) хранится длительно при температуре минус 70 °С или в сосуде Дьюара с жидким азотом.</p> <p>Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
--	---

ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ

Материал забирать в контейнер: Кат. №: ИЛС-КП-60-С	Взятие материала <p>Пробы отбирают с соблюдением правил асептики в стерильные широкогорлые банки с помощью стерильной ложки, пинцета или ножа. Края банок обжигают над пламенем спиртовки. После закладки проб банки закрывают стерильной бумагой и перевязывают.</p> <p><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p>Условия хранения и перевозки материала: при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
---	---

ПОЧВА, ТРАВА, ФУРАЖ, ПОДСТИЛКА

Материал забирать в контейнер: Кат. №: ИЛС-КП-60-С	Взятие материала <p>Пробы почвы с мест вероятного обсеменения патогенными микроорганизмами (мест вынужденного убоя скота, стоянок и водопоя животных) берут в количестве 20–30 г на глубине до 15 см, на территории скотомогильников — на глубине до 2 м с помощью почвенных буров. При этом верхний слой почвы- (2–3 см) снимают.</p> <p>Пробы фуража берут из поверхностного слоя — не менее 400 г на 4 кв. м поверхности при незатаренном типе хранения. Из брикетированного корма срезают верхний слой брикета. Отбор проб проводят сухим стерильным пробным щупом. Пробы грубых кормов (сено, солома) берут из разных мест скирды при помощи ножниц и пинцета из расчета одна проба (40 г) на 4 кв. м площади скирды. Отобранные навески сена и соломы измельчают при помощи ножниц и пинцета на листе бумаги, затем помещают в банки. Зеленую массу, срезанную ножницами, помещают пинцетом в пробирку или в банку.</p> <p><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p>Условия хранения и перевозки материала: при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
---	---

ВОДА, СТОКИ, СМЫВЫ

<p>Материал забирать в контейнер:</p> <p>Кат. №: ИЛС-КП-60-С</p>	<p style="text-align: center;">Взятие материала</p> <p>Водопроводную воду и воду из поверхностных водоемов для исследования берут в количестве 1 л на одну пробу в двух объемах по 500 мл в стерильную посуду с непромокаемой пробкой. Из водопроводных кранов отбор проб воды производят - после предварительного обжигания их спиртовым факелом- и спуска воды в течение 10 минут при полном открытии крана.</p> <p>Хозяйственно-бытовые сточные воды отбирают для исследования двумя способами: в объеме 1 л в двух емкостях по 500 мл или тампонами, приготовленными из марлевых салфеток размером 10x15 см в 10–15 слоев. Последние закрепляют у места забора воды, через 1 сутки помещают в стерильную банку, содержащую физиологический раствор.</p> <p>Смывы с поверхностей берут стерильными ватными тампонами или марлевыми салфетками. Перед взятием смывов тампоны или салфетки смачивают стерильным физиологическим раствором. После взятия смыва тампон (салфетку) погружают в емкость с физиологическим раствором.</p> <p style="text-align: center;"><i>Требуется предварительная обработка проб.</i></p> <p style="text-align: center;">Условия хранения и перевозки материала:</p> <p>при температуре 2–8 °С — в течение 1 суток; при температуре минус 20 °С — в течение 1 месяца; при температуре минус 70 °С — длительно.</p> <p>Допускается лишь однократное замораживание-оттаивание материала.</p>
--	---

ПРЕДОБРАБОТКА МАТЕРИАЛА

Вид клинического материала	Предварительная обработка
<p>Кровь</p>	<p>Плазму крови получают центрифугированием пробирок с цельной кровью при 800–1600 g (3000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 20 минут при комнатной температуре. Затем отбирают плазму в количестве не менее 1 мл отдельными наконечниками с фильтром (пастеровскими пипетками) в стерильные пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл.</p> <p>Клетки крови (лейкоцитарную фракцию цельной крови, лейкоцитарную пленку) для выявления лейкотропных вирусов и т.д. следует отбирать после центрифугирования цельной крови и удаления плазмы. Используя наконечник с фильтром аккуратно собрать лейкоцитарную массу с поверхности осадка клеток в объеме 0,2 мл и перенести в стерильную пробирку объемом 1,5-2,0 мл.</p> <p>Для получения сыворотки пробирки с кровью (без антикоагулянта) отстаивают при комнатной температуре в течение 30 минут до полного образования сгустка или помещают в термостат при 37 °С на 15 минут. Затем центрифугируют при 800–1600 g (3000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 10 минут при комнатной температуре. Сыворотку переносят отдельными наконечниками с фильтром (пастеровскими пипетками) в стерильные пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл. Сыворотка не должна быть гемолизированной.</p> <p>Сыворотку допустимо использовать только для качественного выявления вирусов гепатитов в случае невозможности получения плазмы; важно помнить, что при свертывании крови часть вируса (ВИЧ, ВГС, ВГБ) остается в кровяном сгустке.</p>
<p>Урогенитальный тракт</p>	<p>Перед работой с образцами, тщательно перемешивают содержимое пробирок на вортексе для растворения слизи и получения гомогенной суспензии клеток.</p> <p>Образцы соскобов эпителия из эндо- и экзо- частей цервикса, взятые комбинированным зондом в пробирку на 5 мл с транспортной средой, при наличии слизи, тщательно перемешивают на вортексе для более полного ее растворения и получения однородной суспензии. Используя наконечник с аэрозольным барьером, переносят 0,5 мл образца в пластиковую пробирку на 1,5 м, центрифугируют 5 минут при 10000 g (12000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия). Удаляют 0,4 мл надосадочной жидкости, осадок клеток перемешивают с 0,1 мл оставшейся жидкости.</p>
<p>Сперма</p>	<p>Непосредственно перед выделением нуклеиновых кислот, используя наконечник с фильтром, переносят 0,05 мл спермы в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл и добавляют 0,15 мл транспортной среды, тщательно перемешивают пробу на вортексе.</p>

Вид клинического материала	Предварительная обработка
Моча	<p>Взбалтывают флакон с мочой. Переносят 1 мл мочи, используя наконечник с фильтром, в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл. Центрифугируют 5 минут при 10000 g (12000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия). При наличии большого количества солей ресуспенсируют только верхний слой осадка солей в объеме 1 мл и затем снова концентрируют. Используя вакуумный отсасыватель с колбой-ловушкой, полностью удаляют супернатант, используя для каждого образца отдельный наконечник без фильтра, не захватывая осадок. К осадку добавляют транспортную среду до конечного объема 0,2 мл, тщательно перемешивают содержимое на вортексе.</p> <p>При исследовании на <i>Leptospira</i> spp. возможно также последовательное концентрирование: сначала 20 мл мочи центрифугировать 10 минут при 9000 g (11000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия), затем осадок и 1 мл надосадочной мочи центрифугировать 10 минут при 11000 g (13000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия).</p>
Фекалии	<p>При исследовании нативных фекалий без предшествующего замораживания готовят фекальную суспензию (при водянистой консистенции фекалий суспензию не готовят).</p> <p>Приготовление фекальной суспензии</p> <p>В соответствующее пробам количество микроцентрифужных пробирок (объемом 1,5 мл) вносят 0,8 мл фосфатного буфера (или стерильного изотонического раствора натрия хлорида). В каждую пробирку отдельным наконечником с фильтром (или одноразовыми лопатками) вносят 0,1 г (0,1 мл) фекалий и тщательно ресуспенсируют на вортексе до образования гомогенной суспензии.</p> <p>При невозможности исследования материала в течение суток и/или необходимости длительного хранения к 10–20%-ной суспензии фекалий в фосфатном буфере (или стерильном изотоническом растворе натрия хлорида) добавляют глицерин в конечной концентрации 10–15%. Подготовленные таким образом пробы замораживают только после тщательной гомогенизации и экспозиции с глицерином в течение 30–40 минут.</p> <p>Приготовление бактериальной фракции фекалий для выявления бактериальных агентов</p> <p>Для приготовления бактериальной фракции фекалий используют фекалии водянистой консистенции, свежеприготовленную суспензию фекалий или суспензию, подвергавшуюся замораживанию с глицерином.</p> <p>Пробирки с суспензией (водянистыми фекалиями) центрифугируют при 7000–12000 g (10000–13000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 5 минут. Отдельным наконечником с фильтром из каждой пробирки отбирают бактериальную фракцию в объеме 0,05 мл (верхняя бело-желтая часть образовавшегося осадка). При отсутствии осадка или бело-желтого пограничного слоя между осадком и супернатантом отбирают 0,1 мл со дна пробирки или с границы осадка или супернатанта, соответственно. Отобранную часть пробы, содержащую высокую концентрацию бактерий, переносят в новую микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл, содержащую</p>

Вид клинического материала	Предварительная обработка
	<p>0,8 мл фосфатного буфера (или стерильного изотонического раствора натрия хлорида). Проводят тщательное ресуспендирование осадка на вортексе с последующим центрифугированием при 7000–12000 g (10000–13000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 15 минут.</p> <p>Супернатант удаляют, а осадок ресуспендируют на вортексе в 0,3 мл фосфатного буфера (стерильного изотонического раствора натрия хлорида).</p> <p>Приготовление осветленного экстракта фекалий для выявления вирусных агентов</p> <p>Для приготовления осветленного экстракта фекалий используют фекалии водянистой консистенции, свежеприготовленную суспензию фекалий или суспензию, подвергавшуюся замораживанию с глицерином.</p> <p>Взвесь фекалий интенсивно гомогенизируют на вортексе. Осветляют полученную суспензию путем центрифугирования при 10000 g (12000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 5 минут. Супернатант (0,1 мл) смешивают с отрицательным контрольным образцом (50%-ная сыворотка крови крупного рогатого скота, разведенная фосфатно-солевым буфером, состав которого указан выше) (0,1 мл) в соотношении 1:1 и используют непосредственно для выделения ДНК или РНК. При необходимости хранения супернатант отбирают в отдельную одноразовую пробирку.</p>
Спинномозговая жидкость	<p>Для концентрирования содержащих вирусы клеток и бактерий при некоторых- инфекционных заболеваниях (ЛЗН, ВКЭ, лептоспироз, боррелиоз, токсоплазмоз) центрифугируют 1 мл спинномозговой жидкости при 10000–11000 об./мин и исследуют осадок и 100 мкл надосадочной жидкости.</p>
Слезная жидкость	Не требуется
Биопсийный и аутопсийный материал	<p>Микробиоптаты (пунктаты) или микроаутоптаты печени, селезенки, предстательной железы, желудочно-кишечного тракта, шейки матки и т.д., помещенные в микропробирки с закручивающимися крышками или в пробирки объемом 1,5 мл с защелкой, содержащие 0,1 мл транспортной среды, предобработки не требуют. Далее выделение нуклеиновых кислот проводят в соответствии с инструкцией к набору реагентов.</p> <p>Макробиоптаты или макроаутоптаты.</p> <p>При выявлении вирусных агентов кусочки ткани массой 0,1–1 г помещают в охлажденную фарфоровую ступку и добавляют охлажденный изотонический раствор хлорида натрия объемом 0,5–1 мл. Измельчают стерильными ножницами с последующим растиранием пестиком. Через ватный тампон отбирают надосадочную жидкость (0,1–0,2 мл) стерильным наконечником с фильтром в стерильные микропробирки.</p> <p>При выявлении бактериальных агентов процесс подготовки макробиоптатов (макроаутоптатов) аналогичен, только ступку и изотонический раствор не охлаждают.</p> <p>По другому способу биоптат непосредственно перед выделением нуклеиновых кислот помещают в жидкий азот, затем аккуратно измельчают его пестиком в предварительно охлажденной жидким</p>

Вид клинического материала	Предварительная обработка
	<p>азотом фарфоровой ступке. Взвешивают 100 мг кусочков ткани и растирают их в ступке в жидком азоте до порошка. Затем для выделения РНК порошок переносят в гомогенизатор и следуют инструкции по выделению РНК. Для выделения ДНК к полученному порошку добавляют равный объем стерильного физиологического раствора (0,1 мл), тщательно перемешивают и отбирают необходимый объем материала согласно инструкции для выделения ДНК.</p> <p>Фарфоровая посуда, а также гомогенизаторы должны быть предварительно обработаны хромпиком и простерилизованы. При гомогенизации нескольких образцов необходимо после каждой пробы протирать поверхность стола 0,2%-ным раствором ДП-2Т, затем водой и 70%-ным этиловым спиртом и менять перед обработкой следующей пробы перчатки.</p>
Отделяемое конъюнктивы	Не требуется
Мазки из полости носа	Не требуется
Смывы из полости носа	Не требуется
Мазки из ротоглотки	Не требуется
Смывы из ротоглотки	Не требуется
Мокрота	<p>Перед выделением нуклеиновых кислот необходимо провести разжижение мокроты, используя раствор «Муколизин» (Na₂HPO₄ 77,4 мМ, NaH₂PO₄ 22,6 мМ, бета-МЭ 99,4 мМ, 5%-ный азид натрия в конечной концентрации 0,05%). В емкость с мокротой добавляют «Муколизин» в соотношении 5:1 (5 частей «Муколизина» к 1 части мокроты), ориентируясь по градуировке емкости, и стерильные стеклянные бусы. В процессе разжижения мокроты (20–30 минут) емкость периодически встряхивают. Затем автоматической пипеткой, используя наконечник с фильтром, отбирают 1 мл разжиженной мокроты, помещают в пробирку с завинчивающейся крышкой или в микроцентрифужную пробирку с защелкой на 1,5 мл и центрифугируют при 5000–7000 g (8000–10000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 10 минут. Удаляют 0,8 мл надосадочной жидкости, осадок клеток перемешивают с 0,2 мл оставшейся жидкости.</p> <p>Допускается выделение ДНК/РНК из 0,1 мл разжиженной мокроты без стадии центрифугирования.</p>
Слюна	Не требуется
БАЛ и промывные воды бронхов	Промывные воды бронхов или бронхо-альвеолярный лаваж перемешивают переворачиванием пробирки. Автоматической пипеткой, используя наконечник с фильтром, отбирают 1 мл клинического материала, помещают в пробирку с завинчивающейся крышкой или пробирку с защелкой на 1,5 мл и центрифугируют при

Вид клинического материала	Предварительная обработка
	7000 g (10000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 10 минут. Удаляют 0,9 мл надосадочной жидкости, осадок клеток перемешивают с 0,1 мл оставшейся жидкости-.
Пунктат бубона	Не требуется
Везикулы, пустулы	Не требуется
Клещи, комары и эктопаразиты (вши и блохи)	<p>клещей помещают в микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл, куда вносят 1 мл 96%-ного этанола, встряхивают на вортексе и центрифугируют в течение 3–5 с при 2000 g (5000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) для удаления капель с крышки пробирки;</p> <p>с помощью вакуумного отсасывателя отдельными наконечниками для каждой пробы удаляют спирт из пробирки;</p> <p>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 (5000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия);</p> <p>с помощью вакуумного отсасывателя отдельными наконечниками для каждой пробы удаляют раствор хлорида натрия из пробирки;</p> <p>переносят клещей в стерильную фарфоровую чашку, добавляют 0,7–1,0 мл 0,15 М раствора хлорида натрия и гомогенизируют пробу;</p> <p>наконечником с фильтром переносят пробу в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл и центрифугируют при 1200 g (3000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 2 мин. для осветления пробы.</p> <p>РНК и ДНК выделяют из 0,1 мл надосадочной жидкости.</p> <p>При выделении РНК и ДНК из комаров, блох и вшей используют данную методику обработки проб, за исключением этапов отмычки в 96%-ном этаноле и 0,15 М растворе хлорида натрия. Насекомых сразу гомогенизируют в стерильной ступке в 0,15 М растворе хлорида натрия.</p>
Пищевые продукты	Твердые пищевые продукты в количестве 1–10 г помещают в стерильную ступку, добавляют 0,9%-ный раствор натрия хлорида в соотношении 1:10 и растирают до гомогенного состояния. Отстаивают и через ватный тампон отбирают надосадочную жидкость, из которой проводят выделение ДНК. Жидкие пищевые продукты в объеме 0,2 мл переносят в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл или 2,0 мл для выделения ДНК.
Почва, трава, фураж, подстилка	К исследуемому материалу добавляют 0,9%-ный раствор натрия хлорида 1:10, тщательно перемешивают в течение 15 минут, отстаивают в течение 10 минут для оседания крупных частиц. Надосадочную жидкость дробно центрифугируют: первоначально в течение 2–3 минут при 2000 g (5000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия), затем супернатант центрифугируют в течение 15 минут при 10000 g (12000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия). Осадок ресуспендируют в 0,2–0,5 мл дистиллированной воды.

Вид клинического материала	Предварительная обработка
<p>Вода, стоки, смывы</p>	<p>При выявлении бактериальных агентов и возбудителей микозов подготовку проб осуществляют методом дробного центрифугирования или вакуумной фильтрации на фильтры с размерами пор 0,45 и 0,65, 0,8, 1,2 мкм, соответственно. При выявлении вирусных агентов для подготовки проб используют только вакуумную фильтрацию на фильтры с размерами пор 0,2 мкм.</p> <p>Дробное центрифугирование</p> <p>Из отобранных образцов переносят по 125 мл в 4 центрифужных стакана объемом 250 мл с завинчивающимися крышками (или по 80 мл в 6 центрифужных пробирок, или по 50 мл в 10 центрифужных пробирок) и центрифугируют в течение 15 минут при 10000 г (12000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия). После этого осадок в каждом стакане (пробирке) ресуспендируют в 0,2 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. Полученные суспензии переносят в микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл или 2,0 мл и центрифугируют при 10000 г (12000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 1 минуты. Надосадочную жидкость отбирают наконечником с фильтром в микропробирку объемом 1,5 мл. Для выделения ДНК используют 0,1–0,2 мл надосадочной фракции.</p> <p>Возможно центрифугирование одной пробы в одном центрифужном стакане (пробирке). Для этого в центрифужный стакан (пробирку) переносят пробу в объеме 50–125 мл и центрифугируют в течение 15 минут при 10000 г (12000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия), надосадочную жидкость удаляют, и в стакан (пробирку) снова добавляют соответствующий объем исследуемой пробы. Аналогичным образом центрифугируют весь объем исследуемой пробы. После последнего центрифугирования осадок ресуспендируют в 1 мл 0,9 % раствора натрия хлорида и центрифугируют при 10000 г (12000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 1 минуты. Надосадочную жидкость отбирают наконечником с фильтром в микропробирку объемом 1,5 мл. Для выделения ДНК используют 0,1–0,2 мл надосадочной фракции.</p> <p>Вакуумная фильтрация</p> <p>Для исследования используют стерильные фильтры с соответствующими размерами пор. В случае сильной загрязненности исходного образца воды механическими или масляными примесями, определяемыми визуально, его предварительно фильтруют на стеклянной воронке через стерильный ватно-марлевый или бумажный фильтр. Подготовленную таким образом воду пропускают через мембранный фильтр. После окончания фильтрации мембранные фильтры переносят обожженным анатомическим пинцетом в стерильный флакон (чашку Петри) или стерильный пластиковый пакет типа «Вихрь» объемом 100 мл, содержащих 10 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. Воду после фильтрации обеззараживают добавлением сухой хлорной извести из расчета 200 г на 1 л.</p>

Вид клинического материала	Предварительная обработка
	<p>Для сорбции бактерий и вирусов с фильтра флакон встряхивают в течение 10 мин с помощью шейкера, фильтр внутри пакета типа «Вихрь» растирают вручную в течение 1 мин, фильтр, помещенный в чашку Петри, разрезают на мелкие куски ножницами, инкубируют при покачивании в течение 10 минут. Далее смыв с поверхности фильтра переносят в стерильную пробирку. Для исследования методом ПЦР отбирают 1 мл в микроцентрифужные пробирки объемом 1,5 мл и центрифугируют при 10000 g (12000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 10 минут. При выявлении бактериальных агентов оставляют 0,1 мл надосадочной жидкости, в которой ресуспандируют осадок. Из полученной суспензии проводят выделение ДНК. При выявлении вирусных агентов для выделения нуклеиновых кислот используют 0,1–0,2 мл надосадочной жидкости.</p>

Список используемых сокращений:

МАНК – методы амплификации нуклеиновых кислот

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота