



ВЕТ ФАКТОР

ИНСТРУКЦИЯ

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

21.10.60-112-51062356-2016

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	10
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	14
11. Срок годности.....	14
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 и др.), а также продуктах и изделиях (мясо, шпик, п/ф, фарш, колбасы, шкуры и т.п.) свиного происхождения и кормах 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 T4) 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 ASFV	прозрачная бесцветная жидкость ¹	550	1100	1
2	Отрицательный контрольный образец, ОКО (TE буфер)	прозрачная бесцветная жидкость	1500	2000	1
3	Положительный контрольный образец, ПКО ASFV	прозрачная бесцветная жидкость	100	200	1

¹ Возможна легкая опалесценция

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.

В набор не входят реактивы для проведения электрофореза в агарозном геле. Для проведения электрофореза рекомендуется использовать набор «ПЦР-ЭФ-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; цирковирус 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 СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I - II групп патогенности (опасности)» и СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».

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);
- 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 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 «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 0,2 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 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 (миндалины, селезенка, легкие, печень и др.) отбирают в стерильный контейнер.
- Лимфоузлы берут на исследование целиком.
- Продукты свиного происхождения и изделия (куски свинины, шпик, фарш, мясные полуфабрикаты, сосиски, колбасу, свиную кожу) отбирают в стерильные контейнеры.
- Корма, предназначенные для свиней.
- Клеточные культуры.

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.

6.2. Подготовка исследуемых проб

Пробы цельной крови, консервированной ЭДТА, мазки со слизистой носоглотки и миндалин, культуры клеток используют для выделения ДНК 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.

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 600-1600 g (3000 об./мин на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 2 мин. Аликвоту надосадочной жидкости (0,1 мл) используют для экстракции ДНК.

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 «ПЦР-ЭФ-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 ASFV**.

Внести исследуемые пробы в объеме согласно инструкции к набору для выделения НК, в пробирку отрицательного контроля выделения вместо исследуемой пробы внести **ОКО (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 реакцию²:

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 – 2 мин	1
2	95°C – 30 сек	42 ³
	62°C – 30 сек	
	72°C – 40 сек	
3	72°C – 2 мин	1

² Объемы реагентов ПЦР СМЕСЬ ASFV и TAQ POLYMERASE на различное количество образцов приведены в Приложении 1

³ При работе с продуктами свиного происхождения количество циклов следует увеличить до 45

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 – 3 мин	1
2	95 °C - 15 сек	42 ⁴
	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 – 3 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.

⁴ При работе с продуктами свиного происхождения количество циклов следует увеличить до 45

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 контрольных образцов.

Контрольные образцы	Этап анализа	Специфическая полоса на электрофореграмме	
		268 пар оснований (вирус АЧС)	500 пар оснований (ВКО)
ВК-	Экстракция НК	нет	да
К+	ПЦР	да	да
К-	ПЦР	нет	нет

Появление специфической полосы ПЦР продукта 500 пн для отрицательного контроля этапа экстракции (ВК-) и полос 500 пн и/или 268 пн для отрицательного контроля этапа ПЦР (К-) свидетельствует о наличии контаминации реактивов или образцов. В этом случае результаты анализа для всех проб считаются недействительными. Требуется повторить анализ всех проб, а также предпринять меры по выявлению и ликвидации источника контаминации.

На дорожках с исследуемыми образцами должно наблюдаться одна или две полосы, совпадающими по подвижности с полосами от образца К+(ПКО ASFV).

Образец считается **отрицательным (ДНК вируса АЧС отсутствует)** если не наблюдается амплификации специфической полосы на уровне 268 пар нуклеотидов и при этом наблюдается специфическая полоса ВКО на уровне 500 пар нуклеотидов.

Образец считается **положительным (ДНК вируса АЧС присутствует)** если наблюдается полоса, подвижность которой совпадает с подвижностью нижней полосы (268 пар нуклеотидов) на дорожке К+ (ПКО ASFV). Наличие полосы ВКО (500 пар нуклеотидов) при этом не обязательно.

Исследуемые образцы, для которых на дорожках отсутствуют обе полосы, требуют повторного проведения исследования. Отсутствие полосы ВКО (500 пар нуклеотидов) при отсутствии амплификации целевого ПЦР-продукта вируса АЧС (268 пар нуклеотидов) указывает на наличие ингибиторов в пробе (ах) или на ошибки при постановке реакции. Необходимо провести исследование начиная с этапа экстракции НК.

ВНИМАНИЕ! При получении сомнительных результатов рекомендуется исследование смывов с поверхностей в лаборатории для исключения риска 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°С.

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		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Нажать «ПРИНЯТЬ» для перехода к меню
2		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Выбрать «ФАЙЛ»
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
3		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Выбрать «Создать»
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
4		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Выбрать «Цикл»
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
5		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Установить температуру 95 °С
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
6		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Установить время 5 минут
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
7		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
8		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Установить число циклов, равное 1
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
9		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Выбрать «Вставить после»
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять

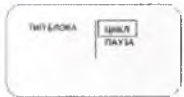
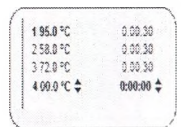

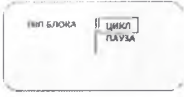
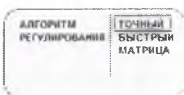
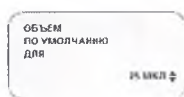
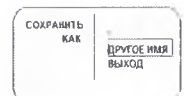
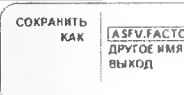
№	Содержание индикатора	Используемые кнопки	Действие
10		<input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/>	Выбрать «Цикл»
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
11		<input type="radio"/>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

Таблица 7. Запуск амплификатора «Терцик»

№	Содержание индикатора	Используемые кнопки	Действие
1		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Нажать на “ПРИНЯТЬ” для перехода к меню
2		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Выбрать “УПРАВЛЕНИЕ”
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
3		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Выбрать “ПУСК”
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
4		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Выбрать программу ASFV.FACTOR
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
5		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Выбрать реакционный блок (например, первый)
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	Принять
6		<input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input checked="" type="radio"/> <input type="radio"/>	Установить действительный объём смеси
		<input type="radio"/> <input type="radio"/> <input type="radio"/> <input checked="" type="radio"/>	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)