БАЛТИЙСКИЙ ДОМ МЕДИЦИНСКОЙ ТОРГОВЛИ
официальный представитель "НПО Питательные среды"
Лицензия № 78-033882, регистрационный номер 03999/2002 от 25.06.02 г.,
199026, Санкт-Петербург,
В.О. 20-я линия, д.7
+7(812) 320-5588
+7(812) 320-5628

Инструкция

по использованию наборов для сбора и концентрирования вирусов из поверхностных водоемов, водных источников и колодцев с помощью автономной установки

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор предназначен для концентрирования вирусов (ECHO, Коксаки А и В, вирусов полиомиелита, гепатита А и Е, ротавирусов и др.) из питьевой и поверхностной воды путем адсорбции вирусных частиц на твердом носителе (волокнистом фильтре) в проточной системе, десорбции (элюции) с использованием элюирующего раствора и последующего концентрирования с помощью полиэтиленгликоля.

СОСТАВ НАБОРА

- волокнистый фильтр в стерильной упаковке - 10 уп - №1
- стерильный элюент в виде 10х концентрата - 3 фл - №2
- ПЭГ с хлористым натрием в стерильной упаковке - 10 фл - №3
- инструкция по применению - 1 шт

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Необходимые материалы и оборудование.

- Низкоскоростная центрифуга 3 000 об/мин
- Шуттель-аппарат
- Лабораторная посуда (стеклянные палочки, пипетки, флаконы, шпатель)

2. Отбор проб.

Работу выполняют в спецодежде (медицинские халаты, стерильные перчатки).

Отбор проб производят на глубине 10-15 см от поверхности воды. Отбор из поверхностных водоемов осуществляют с помостов, мостов, плавсредств, используя проточную воду и избегая заболоченных и застойных мест. Отбор проб осуществляют с помощью «Установки для улавливания вирусов из воды автономной», ТУ BY 100185198. 081-2006.

Волокнистый фильтр извлекают из стерильной упаковки и помещают в сменный картридж между уплотнительными прокладками. Далее сменный картридж присоединяют к электронасосу и с помощью телескопического устройства погружают в воду. Скорость протекания воды через картридж составляет 300л/час. Необходимый объем пропускаемой воды для поверхностных водоемов составляет 100 л.(20 мин.), для питьевой воды из водных источников и колодцев – 1000 л (.3ч. 20 мин.) Длительность отбора проб рассчитывают по формуле: $t = V : W$, где V – количество пропускаемой воды, л., W – скорость протекания воды, л/час. Включают насос и осуществляют пропускание исследуемой воды в течение рассчитанного времени, по истечении которого сменный картридж отсоединяют от электронасоса, извлекают из него волокнистый фильтр, который затем помещают в стерильный пакет. Пробы в стерильном пакете маркируют, указывая населенный пункт, точку, дату (число, месяц, год), время отбора, должность и ФИО производившего отбор. Промаркированные пробы доставляют в вирусологическую лабораторию в срок не более 6 часов для дальнейшего исследования. Доставленный материал немедленно обрабатывают или хранят при температуре $+4^0$C не более 1 суток.

В вирусологической лаборатории в стерильных условиях с помощью стерильного пинцета из доставленного пакета извлекают волокнистый фильтр и помещают его в стерильный стакан. Для

осуществления элюции «уловленных» волокнистым фильтром вирусов в этот же стакан вносят 50 мл рабочего раствора элюента. Для получения рабочего раствора элюента 10х концентрат **(содержимое флакона №2)** разводят в стерильной дистиллированной воде в соотношении 1 : 9 (объем элюента/объем воды). Для обработки одной пробы 5мл элюента растворяют в 45 мл дистиллированной воды. Время экспозиции волокнистого фильтра и элюента должно составлять 25-30 мин, при этом необходимо периодически перемешивать содержимое стакана с помощью стерильной стеклянной палочки или путем помещения его на шуттель-аппарат. После истечения времени экспозиции полученный элюат сливают в стерильный флакон емкостью не менее 100 мл, удерживая и одновременно выжимая волокнистый фильтр шпателем. Целесообразно собрать максимальное количество элюата (полученный объем будет составлять ~60 мл и более за счет воды, частично удерживаемой волокнистым фильтром). Далее элюат концентрируют с использованием ПЭГ-6000 и хлористого натрия. Для этого к полученному объему элюата добавляют ПЭГ-6000 и хлористый натрий **(содержимое флакона №3)**. Смесь тщательно перемешивают до растворения ПЭГ, затем выдерживают в течение 10-12 часов (обычно ночь) при $+4^0$С. Образовавшуюся суспензию центрифугируют при 3000 об/мин в течение 1часа. После центрифугирования надосадок удаляют, а для дальнейших исследований оставляют нижнюю фазу в объеме примерно 4 мл. Для осветления и удаления бактериальной флоры сконцентрированный элюат обрабатывают хлороформом в соотношении 1/2 (объем пробы/объем хлороформа). Полученную смесь встряхивают в течение 10 минут на шуттель-аппарате, а затем центрифугируют при 2000 об/мин в течение 10 минут. После центрифугирования верхнюю фазу осторожно, не задевая нижнюю фазу, отбирают с помощью пипетки в стерильный флакон. После этого элюат используют для дальнейших исследований на культурах клеток, в ИФА и ПЦР, предварительно разделив его на аликвоты по видам исследований.

Использованный волокнистый фильтр заливают 3% раствором перекиси водорода для обеззараживания на 12 часов

Элюат можно хранить при температуре - 20°С не более 6 месяцев, при температуре +4°С - не более 3 суток. Аликвоты элюата, предназначенные для вирусологических исследований, не следует размораживать более 2 раз.

СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ.

Срок годности набора 12 месяцев с даты изготовления.
Элюент в виде 10х концентрата хранят при температуре от плюс 4 до плюс 6^oС. Набор без элюента хранят при комнатной температуре.
Флаконы с рабочим раствором элюента используют в течение 18 ч при температуре хранения от плюс 4 до плюс 6^oС и в течение всего срока годности набора при хранении при минус 20^oС.
Транспортирование осуществляют всеми видами крытого транспорта при температуре от плюс 4 до плюс 8^0С. Допускается транспортирование при более высокой температуре (до плюс 20^0С), в течение не более 5 суток.