

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для
сбора и концентрирования вирусов из воды
с использованием сорбента на основе
магнитных микрочастиц «Вирсорб-М»
(на 50 л воды)

V-1050 Вирсорб-М

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов «Виросорб-М» предназначен для сбора и концентрирования вирусов из объектов окружающей среды (вода питьевая централизованного и нецентрализованного водоснабжения, вода поверхностных водных объектов, вода плавательных бассейнов, сточные воды), а также в смывах с фруктов, овощей и зелени с использованием сорбента на основе магнитных микрочастиц с целью дальнейшего исследования образца методом ПЦР или в культуре чувствительных клеток.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Магнитные частицы, используемые в наборе реагентов (MagSi+), представляют собой магнетит, покрытый полимером диоксида кремния с аминогруппами, которые в воде имеют положительный заряд. При внесении магнитного сорбента MagSi+ в воду, при наличии в ней вирусов, которые, как правило, в воде имеют отрицательный заряд, происходит их адсорбция на поверхности частиц за счет ионных и гидрофобных взаимодействий. После инкубации MagSi+ собирают с помощью магнита, промывают и проводят элюцию с использованием щелочного буфера с высокой ионной силой. Далее щелочной рН элюата нейтрализуют буфером для нейтрализации и используют полученный раствор для анализа методом ПЦР или, после фильтрующей стерилизации, для заражения культуры клеток.

2.2. СОСТАВ НАБОРА

В состав набора входят следующие компоненты, упакованные в коробку:

Компонент	Описание	Количество
Сорбент MagSi+	Сорбент на основе магнитных микрочастиц в виде черной или темно-бурой суспензии.	25 мл 2 флакона
Элюирующий раствор	Прозрачная жидкость	30 мл 2 флакона
Нейтрализующий раствор	Прозрачная жидкость. Внимание, раствор содержит кислоту!	5 мл 1 пробирка

Один набор рассчитан на анализ 50 л воды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

Степень концентрирования вирусов из воды составляет 1000 раз.

Эффективность концентрирования вирусов зависит от источника воды, его белковой загрязненности, сроков между сбором образца и его анализом, условий транспортировки и хранения, вида вируса. В среднем эффективность концентрирования кишечных вирусов варьирует в диапазоне 80-90%.

При исследовании воды необходимо соблюдать меры предосторожности и обращаться с образцами, растворами, а также с оборудованием и материалами,

находящимися с образцом воды в контакте, как с потенциально инфекционными:

- не пипетировать растворы ртом, при работе использовать индивидуальные средства защиты (резиновые перчатки и защитные очки);
- все отработанные растворы и отходы после завершения анализа обрабатывать в соответствии с установленными нормами безопасности (например, в течение 16-18 часов в растворе гипохлорита натрия в конечной концентрации 1 %);
- все твердые отходы сбрасывать в специальный контейнер с пломбируемой крышкой и затем автоклавировать в течение 60 мин при 121 °С или сжигать;
- инструменты и оборудование до и после работы протирать 70 %-м раствором этилового спирта;
- утилизировать отходы, в соответствии с требованиями СП 1.3.2322 - 08 (Санитарно-эпидемиологические правила "Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней"), соблюдая законодательство по охране окружающей среды.

4. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

- дистиллированная или деионизированная вода;
- 4М раствор хлорида натрия (стерильный);
- 50 мМ раствор хлорида натрия (стерильный);
- дезинфицирующие растворы, соответствующие санитарным требованиям;
- резиновые перчатки;
- спирт этиловый;
- пипетки одноканальные автоматические со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 1 мл до 5,0 мл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3 %);
- центрифуга настольная на 3-10 тыс. об/мин;
- верхнеприводная или магнитная мешалка;
- перистальтический насос;
- магнит неодимовый или магнитный штатив для пробирок 1,5-2 мл, 15 мл, 50 мл;
- пробирки центрифужные полипропиленовые вместимостью 15-50 мл для сбора, хранения, осветления элюатов;
- мерный стакан или цилиндр вместимостью 250-500 мл;
- мерная посуда вместимостью до 25 мл;
- контейнер для сброса твердых отходов;
- контейнер для слива использованных жидкостей;
- автоклав для инактивации отходов;
- вата гигроскопическая;
- фильтровальная бумага.

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для проведения анализа используется вода питьевая централизованного и нецентрализованного водоснабжения, вода поверхностных водных объектов, вода плавательных бассейнов, сточные воды, смывы с овощей и фруктов.

6. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Перед использованием набора необходимо приготовить 4М раствор хлорида натрия и простерилизовать в стерильных условиях через фильтр с диаметром пор 0,2 мкм или автоклавировать при температуре 121 °С и давлении 1 атм в течении 20 минут. Для анализа 50 л воды потребуется 0,6 л 4М раствора NaCl.

Таблица 1

Компонент набора	Условия хранения	Срок хранения
Сорбент MagSi+	от +2 °С до +8 °С	до окончания срока годности набора
Элюирующий раствор		
Нейтрализующий раствор		

Все реагенты, входящие в состав набора, готовы к применению.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Сорбент MagSi+ перед использованием тщательно встряхнуть и добавить в образец воды из расчета 1 мл взвеси сорбента на 1 л исследуемой воды.

2. Адсорбцию вирусов проводить при постоянном перемешивании с использованием шейкера, верхнеприводной или магнитной мешалки в течение 2 часов. Скорость перемешивания подобрать таким образом, чтобы сорбент равномерно распределялся по всему объему воды.

3. За 15 минут до окончания сорбции в воду добавить 4 М раствор NaCl (не входит в набор) из расчета 10 мл на 1 л исследуемой воды.

4. Собрать частицы сорбента, приложив редкоземельный магнит с внешней стороны бутылки (емкости). Аккуратно слить надосадочную жидкость, стараясь не потерять сорбент, при этом необходимо оставить в емкости около 20 мл воды.

5. Ресуспендировать сорбент, используя стерильную культуральную пипетку на 5 мл с грушей или электрическим пипеточным дозатором, по возможности, сэмплер на 5 мл. Перенести суспензию в стерильную 50 мл полипропиленовую пробирку с герметично закручивающейся крышкой (типа Corning # 430921, # 430829). Можно также использовать магнитный штатив для 50 мл пробирок, пробирку с трубками типа Corning # 11705 и перестальтический насос.

6. Смыть остатки сорбента со стенок бутылки с использованием стерильного 50 мМ раствора NaCl. Перенести суспензию в 50 мл пробирку с основным сорбентом.

7. Довести с помощью 50 мМ раствора NaCl объем суспензии до 50 мл.
8. Собрать сорбент магнитом, пока супернатант не станет прозрачным.
9. Отобрать надосадочную жидкость, удерживая магнитные частицы редкоземельным магнитом. Рекомендуем использовать для этого стерильные серологические одноразовые пипетки на 10 или 25 мл с грушей или электрическим дозатором. Оставьте около 3 мл раствора хлорида натрия для дальнейшего переноса сорбента в пробирку для элюции.

10. В зависимости от объема сорбента подобрать подходящий объем пробирки для элюции. Перенести суспензию в пробирку с герметичной крышкой.

11. Довести объем жидкости с помощью 50 мМ раствора NaCl до максимальной вместимости пробирки.

12. Собрать частицы магнитом.

13. Слить надосадочную жидкость, удерживая сорбент магнитом с внешней стороны пробирки. Остатки жидкости отобрать с помощью сэмплера, стараясь не удалить вместе с жидкостью сорбент.

14. Добавить к сорбенту «Элюирующий раствор» в объеме равном количеству сорбента, взятого на адсорбцию (см. п.1), и интенсивно встряхивать на вортексе в течение 15 минут. Необходимо, чтобы осадок полностью ресуспендировался.

15. Собрать частицы магнитом. Всю надосадочную жидкость перенести в зависимости от объема элюата либо в чистую полипропиленовую пробирку, при этом попадание в элюат следовых количеств сорбента не критичен.

16. Добавить к элюату «Нейтрализующий раствор» из расчета 80 мкл на 1 мл элюата и тщательно перемешать на встряхивателе. Внимание! Раствор содержит кислоту!

17. Элюат можно использовать для выделения нуклеиновых кислот или для заражения культуры клеток после предварительной фильтрующей стерилизации через фильтр с диаметром пор 0,2 мкм с мембранами, имеющими низкую белковую сорбционную способность (лучше всего SFCA-мембрана, например, Corning #431219) или PES-мембрана, например, Corning #431229 или аналогичные фильтры другого производителя).

Внимание! Со всеми растворами работать аккуратно в перчатках и халате, избегать попадания растворов на кожу, одежду и в глаза! При попадании растворов на кожу или в глаза - промыть обильно под струей воды.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор транспортируют и хранят в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от +2 °С до +8 °С. Замораживание не допускается! Допускается транспортирование в течение 3 суток при температуре от +9 °С до +30 °С.

Условия отпуска: для диагностики *in vitro* в лечебно-профилактических и санитарно-противоэпидемиологических учреждениях.

Рекламации на качество набора направлять в АО БТК «Биосервис» по адресу:
115088, г. Москва, а/я 20, тел. +7 (495)142-56-05.

10. СРОК ГОДНОСТИ

Срок годности набора 12 месяцев. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит.

ДЛЯ ЗАМЕТОК