

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский государственный университет»
(ТГУ)

УТВЕРЖДАЮ

Проектор по научной и
инновационной деятельности

А.Б. Ворожцов

«10» *сентября* 2021 г.



Порядок

сбора образцов объектов исследований для реализации
исследовательской программы по теме: «Широкомасштабный поиск и
изучение микроорганизмов и микробных сообществ, ассоциированных с
сельскохозяйственными животными и продуктами животного
происхождения»

1. Общие положения

1.1 Порядок сбора образцов объектов исследований (далее – Порядок) в ходе выполнения проекта регламентирует сбор образцов фекалий, компоста, кисломолочных продуктов животного происхождения, культур СХЗМ, в том числе образцов, собранных в ходе реализации исследовательской программы в рамках гражданской науки (далее – образцов) и содержит методику сбора образцов и требования к параметрам образцов.

1.2. Порядок регламентирует сбор образцов в рамках реализации исследовательской программы по теме «Широкомасштабный поиск и изучение микроорганизмов и микробных сообществ, ассоциированных с сельскохозяйственными животными и продуктами животного происхождения» на весь период реализации исследовательской программы.

1.3. Изменения и дополнения в Порядок сбора образцов объектов исследований могут быть внесены в случае возникновения необходимости корректировки сбора образцов в отчетном периоде.

2. Общие требования

2.1. Образцы должны быть собраны в определённые контейнеры/пробирки/пакеты или другие ёмкости, обеспечивающие их сохранность.

2.2. Тара для хранения образцов должна быть целая, чистая и плотно закрыта.

2.3. Образцы должны быть промаркированы таким образом, чтобы обеспечить учет образцов и соответствие протоколам сбора образцов.

2.4. С образцами должна поступать документация, отражающая всю необходимую ассоциированную с образцами информацию.

2.5. Информация о собранных образцах должна быть передана головной организации исследовательской программы по теме «Широкомасштабный поиск и изучение микроорганизмов и микробных сообществ, ассоциированных с сельскохозяйственными животными и продуктами животного происхождения» в отчетном периоде, по возможности непосредственно после сбора образцов.

2.6. Передача образцов третьим лицам (для транспортировки или хранения) должна сопровождаться соответствующим протоколом.

2.7. В случае, если качество образца не соответствует параметрам проведения исследований в рамках исследовательской программы, то необходимо принять решение об утилизации образца.

3. Специальные требования

3.1. Сбор образцов в ходе реализации исследовательской программы в рамках гражданской науки

3.1.1. Для сбора образцов фекалий или компоста участникам Проекта потребуются следующие компоненты набора для сбора биологических образцов:

- 1) Флакон объемом 13 мл, содержащий транспортную среду – 2 шт.;
- 2) Пластиковая ложка для забора образцов – 2 шт.;
- 3) Пластиковый шпатель – 2 шт.;
- 4) Этикетки для маркировки образцов – 2 шт.;
- 5) Инструкция – 1 шт.

3.1.2. Требования к параметрам образцов:

Собираемые образцы - свежие фекалии, масса от 5 до 15 граммов, собираются непосредственно в местах содержания животных.

3.1.3. Методика сбора образцов:

- Отобрать с помощью ложки образец фекалий или компоста, удалить излишки с помощью шпателя (Рисунок 1);



Рисунок 1. Забор образца фекалий

- Равномерно распределить образец по поверхности ложки с помощью шпателя. Образец должен заполнять весь внутренний объем ложки для того, чтобы его количества хватило на дальнейшие исследования (Рисунок 2 иллюстрирует забор нужного (слева) и недостаточного (справа) количества образца);



Рисунок 2. Необходимое количество образца фекалий

- Поместить ложку с нужным количеством образца во флакон с транспортной средой, флакон плотно закрыть крышкой (Рисунок 3);



Рисунок 3. Перенос образца в транспортную среду

- Взбалтывающими движениями перемешать содержимое флакона. Внутри флакона должна образоваться однородная суспензия (Рисунок 4);



Рисунок 4. Флакон с образцом после перемешивания

- Промаркировать (оклеить) флакон этикеткой из набора;
- Отобрать вторую пробу этого же образца, повторив п. 1-5.
- Для получения корректных результатов в дальнейших исследованиях образцы необходимо хранить в холодильнике в диапазоне температур от +2 до +8 °С. Допускается транспортировка образца при комнатной температуре в течение 7 дней. Замораживание образца не допускается, обратите внимание на условия транспортировки груза в холодное время года.

3.2. Сбор образцов СЖ, РСЖ, компоста

3.2.1. Сбор и транспортировка образцов фекалий сельскохозяйственных животных

3.2.1.1. Требования к параметрам образцов

- Образцы фекалий сельскохозяйственных животных необходимо отбирать в месте их непосредственного выпаса или постоя.
- Образцы фекалий необходимо отбирать не более чем через 1-2 дня после испражнения животного.

3.2.1.2. Методика сбора образцов

- Отбор образцов осуществляется с использованием одноразовых перчаток в герметичный полиэтиленовый или металлизированный дой пак с зип замком.

- После отбора образцов в пакет, необходимо максимально выпустить из него воздух и плотно закрыть.

- Каждый пакет с образцом должен быть промаркирован (маркировка должна включать в себя уникальный номер/код, согласованный с сотрудниками биобанка или наименование образца и дату его сбора (в этом случае уникальный номер будет присвоен образцу в момент его помещения в биобанк для хранения)), подписан перманентным маркером четко, крупно и на видном месте.

- Пакет с образцом необходимо поместить в термосумку, для поддержания постоянной температуры в пределах от 15 до 25 °С и доставить в место постоянного или временного хранения.

- Временное хранение образцов при температуре не выше +4 °С допускается не более двух суток.

- Временное хранение при температуре не выше -20 °С допускается не более 7 суток.

- Постоянное хранение осуществляется при температуре не выше -70 °С в условиях морозильной камеры или в жидком азоте.

- В процессе отбора образцов необходимо заполнить лист-анкету с подробным описанием всей ассоциированной с образцом информации.

- Ассоциированная с образцом информация должна содержать следующие данные: ФИО человека, осуществляющего отбор пробы, его контактные данные (номер телефона, адрес электронной почты), дату, время и место сбора образцов, температуру и относительную влажность воздуха в месте отбора проб, наличие/отсутствие осадков в момент или накануне сбора образцов, вид сельскохозяйственного животного, особенности питания и содержания сельскохозяйственных животных, цвет, консистенцию, запах и внешний вид фекалий.

3.2.2. Сбор и транспортировка образцов компоста

3.2.2.1. Требования к параметрам образцов

- Образцы перегноя следует отбирать непосредственно из середины перегнойной кучи.

- Отбор образцов следует осуществлять до установления постоянного снежного покрова.

3.2.2.2. Методика сбора образцов

- Отбор образцов перегноя осуществляется с использованием одноразовых перчаток и стерильного деревянного шпателя с пластиковые емкости типа «Фалькон», объёмом 50 мл.

- Пробы необходимо плотно утрамбовать в ёмкость для сбора образцов.

- Ёмкость для сбора образцов должна быть заполнена полностью, воздушная подушка между крышкой и образцом должна быть минимальна.

- Всего необходимо отобрать 4 ёмкости.

- Каждый фалькон с образцом должен быть промаркирован (маркировка должна включать в себя уникальный номер/код, согласованный с сотрудниками биобанка или наименование образца и дату его сбора (в этом случае уникальный номер будет присвоен образцу в момент его помещения в биобанк для хранения)), подписан перманентным маркером четко, крупно и на видном месте.

- После отбора проб ёмкости с образцами необходимо поместить в термосумку, для поддержания постоянной температуры в пределах от 15 до 25 °С и доставить в место постоянного или временного хранения.

- Временное хранение образцов при температуре не выше +4 °С допускается не более двух суток.

- Временное хранение при температуре не выше -20 °С допускается не более 7 суток.

- Постоянное хранение осуществляется при температуре не выше -70 °С в условиях морозильной камеры или в жидком азоте.

- В процессе отбора образцов необходимо заполнить лист-анкету с подробным описанием всей ассоциированной с образцом информации.

- Ассоциированная с образцом информация должна содержать следующие данные: ФИО человека, осуществляющего отбор пробы, его контактные данные (номер телефона, адрес электронной почты), дату, время и место сбора образцов, температуру и относительную влажность воздуха в месте отбора проб, наличие/отсутствие осадков в момент или накануне сбора образцов, состав перегноя (вид сельскохозяйственного животного на фекалиях которого основан перегной), особенности питания и содержания сельскохозяйственных животных на фекалиях которых основан перегной, возраст перегноя, место приобретения/получения перегноя, условия хранения перегноя, цвет, консистенцию, запах и внешний вид перегноя.

3.3. Сбор образцов традиционных кисломолочных заквасок

3.3.1. Требования к параметрам образцов:

- Отобранные образцы кисломолочных продуктов должны быть свежеприготовленными, а именно быть отобранными не позже следующего срока с момента приготовления:

1. кисломолочных продуктов в жидкой форме (ряженка, кефир, простокваша, мацони, айран) не более 5 суток;
2. творога не более 5 суток;
3. сыра типа сулугуни не более 10 суток;
4. сыра типа чечил не более 10 суток;
5. сыворотки не более 3 суток;
6. сметаны не более 5 суток;
7. брынзы не более 10 суток;
8. масла не более 7 суток;
9. молока не более 3 суток.

3.3.2. Методика сбора образцов:

- При отборе образцов необходимо составить протокол и провести фиксацию следующей информации:

1. регион происхождения образца, место приготовления, наименование населенного пункта, фиксация координат населенного пункта;
2. масштаб производства, количество поголовья скота;
3. локация приобретения образца (рынок, частный дом, ферма и пр.).

Первичный отбор образцов.

- Традиционные кисломолочные продукты, как правило, возможно приобрести либо у производителя, либо на торговых площадках (рынки, ярмарки и пр.). Необходимо отобрать такое количество образца, чтобы в дальнейшем возможно было отделить поверхностную часть, контактирующую с упаковкой (для плотных продуктов таких как сыры, творог, сметана и пр.).

- Образцы в жидкой форме должны быть отобраны или непосредственно в таре производителя, или в стерильную тару объемом не менее 200 мл.

- Сыры (сулугуни, чечил, сулугуни) должны быть отобраны в количестве не менее 100 гр., как правило, в упаковке производителя (полиэтиленовые пакеты).

- Творог должны быть отобраны в количестве не менее 100 гр., как правило, в упаковке производителя (полиэтиленовые пакеты).

- Сыворотка должна быть отобрана непосредственно в таре производителя или в стерильную тару объемом не менее 200 мл.

- Сметана должна быть отобрана в количестве не менее 200 мл, как правило в упаковке производителя (полиэтиленовые пакеты), или полиэтиленовых стаканах.

- Масло должно быть отобрано в количестве не менее 200 гр., как правило в упаковке производителя (полиэтиленовые пакеты).

- Молоко должно быть отобрано или непосредственно в таре производителя, или в стерильную тару объемом не менее 500 мл.

- Все отобранные образцы должны быть промаркированы по наименованию продукта и месту происхождения.

Транспортировка после первичного отбора.

- Отобранные образцы необходимо в течение нескольких часов доставить в помещение для вторичного отбора в лабораторную тару. Транспортировка должна проводиться в термоконтейнерах с хладоэлементами.

Вторичный отбор в лабораторную тару.

- Все образцы переносятся в пластиковые пробирки с завинчивающимися крышкой типа «фалькон», объемом 50 мл:

- Образцы в жидкой форме (ряженка, кефир, простокваша, мацони, айран, сыворотка, молоко и др.) нужно тщательно встряхнуть в первичной упаковке, а затем аликвоту в объеме 40мл перелить в фальконы.

- Сыры (сулугуни, чечил и др.) должны быть отобраны путем «высекания» цилиндра шприцем с отрезанной носовой частью, объемом 10мл или 20мл. По всему объему продукта должно быть проведено несколько "высеканий" в различных частях для нормирования отобранной пробы. Высеченные цилиндры выталкиваются поршнем шприца в фалькон.

- Творог должен быть отобран путем «высекания» цилиндра шприцем с отрезанной носовой частью, объемом 10мл или 20мл. По всему объему продукта должно быть проведено несколько "высеканий" в различных частях для нормирования отобранной пробы. Высеченные цилиндры выталкиваются поршнем шприца в фалькон.

- Сметана должна быть отобрана путем «высекания» цилиндра шприцем с отрезанной носовой частью, объемом 10мл или 20мл. По всему объему продукта проводится несколько "высеканий" в различных частях для нормирования отобранной пробы. Высеченные цилиндры выталкиваются поршнем шприца в фалькон.

- Масло должно быть отобрано путем «высекания» цилиндра шприцем с отрезанной носовой частью, объемом 10мл или 20мл. По всему объему продукта

проводится несколько "высеканий" в различных частях для нормирования отобранной пробы. Высеченные цилиндры выталкиваются поршнем шприца в фалькон.

- Все фальконы нумеруются сквозной маркировкой с кодировкой наименования продукта и места происхождения, данные вносятся в протокол. Отобранные образцы должны храниться при температуре $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ не более 5 суток до проведения дальнейшей работы в лаборатории. Образцы молока в случае отсутствия возможности быстрой доставки в лабораторию допускается заморозить при -20°C , хранить и транспортировать при этой температуре до проведения исследований.

3.4. Сбор и характеристика образцов фекалий редких сельскохозяйственных животных (верблюдов, яков, грубошерстных овец, тофаларских оленей и бурятских лошадей)

3.3.1. Требования к параметрам образцов:

- Сбор образцов фекалий редких сельскохозяйственных животных (верблюдов, яков, грубошерстных овец, тофаларских оленей и бурятских лошадей) необходимо осуществлять в месте их непосредственного выпаса или пастбища.

- Образцы фекалий необходимо отбирать не более чем через 1-2 дня после испражнения животного.

- Образец для исследования должен быть взят в достаточном объеме для выделения ДНК и для получения метаданных.

3.3.2. Методика сбора образцов:

- Отбор образцов осуществляется с использованием одноразовых перчаток в герметичный полиэтиленовый с zip замком или в фалькон.

- После отбора образцов в пакет, необходимо максимально выпустить из него воздух и плотно закрыть. При отборе образца в фалькон – заполнить его полностью.

- Каждый пакет с образцом должен быть промаркирован (маркировка должна включать в себя уникальный номер/код, согласованный с сотрудниками биобанка или наименование образца и дату его сбора (в этом случае уникальный номер будет присвоен образцу в момент его помещения в биобанк для хранения)), подписан перманентным маркером четко, крупно и на видном месте.

- Пакет (фалькон) с образцом необходимо поместить в термосумку, для поддержания постоянной температуры в пределах от 15 до 25°C и доставить в место постоянного или временного хранения.

- Временное хранение образцов при температуре не выше $+4^{\circ}\text{C}$ допускается не более двух суток.

- Временное хранение при температуре не выше $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ допускается не более 7 суток.

- Постоянное хранение осуществляется при температуре не выше $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ в условиях морозильной камеры или в жидком азоте.

- В процессе отбора образцов необходимо заполнить лист-анкету и/или протокол с подробным описанием всей ассоциированной с образцом информации.

- Ассоциированная с образцом информация должна содержать следующие данные: вид редкого сельскохозяйственного животного, количество образцов, маркировка, место отбора, условия отбора, условия доставки и хранения, дата отбора, название учреждения, Ф.И.О. и подпись лица, ответственного за оформление протокола сбора образцов.