

Регистрационное удостоверение
№ РЗН 2025/25517 от 30 мая 2025 года**В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов БакСкрин ОКИ 1 в фасовке S.**
Перед началом работы изучите инструкцию.

**Набор реагентов
для выявления ДНК термофильных кампилобактерий
Campylobacter coli и *Campylobacter jejuni* (без дифференциации),
бактерий рода *Shigella* и энтероинвазивных *E.coli* (EIEC)
(без дифференциации), бактерий рода *Salmonella* spp.
методом ПЦР в режиме реального времени**

БакСкрин ОКИ 1

**R1-P502-23/9 (Фасовка S, пробирки)****R1-P502-S3/9 (Фасовка S, стрипы)**

Информация о наборе реагентов

Назначение:

Набор реагентов предназначен для выявления ДНК термофильных кампилобактерий *Campylobacter coli* и *Campylobacter jejuni* (без дифференциации), бактерий рода *Shigella* и энтероинвазивных *E.coli* (EIEC) (без дифференциации), бактерий рода *Salmonella* spp. в биологическом материале человека (фекалии) и бактериальных культурах, полученных из этого биоматериала, методом ПЦР в режиме реального времени.

Выделение ДНК¹:

Рекомендуются комплекты реагентов для выделения ДНК ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС, ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-ОПТИМА, ПРОБА-МЧ МАКС (ООО «ДНК-Технология ТС»).

Количество анализируемых образцов:

96 определений (не более 24 постановок), включая анализ неизвестных образцов, отрицательных контрольных образцов и положительных контрольных образцов.

Состав набора реагентов:

Наименование компонента	Внешний вид	Количество пробирок	Номинальный объем компонента
Смесь для амплификации, запечатанная парафином	Прозрачная бесцветная или розовая жидкость под воскообразным белым слоем	96 пробирок или 12 стрипов по 8 пробирок	по 20 мкл
Раствор Taq-полимеразы	Прозрачная бесцветная жидкость	2 пробирки	по 500 мкл
Минеральное масло	Прозрачная бесцветная вязкая маслянистая жидкость	2 пробирки	по 1,0 мл
Положительный контрольный образец ²	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов ³	12 шт.		

Т а б л и ц а 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex/Vic	Rox	Cy5	Cy5.5
<i>Campylobacter coli/jejuni</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Shigella</i> /EIEC	ОБМ*	–
* – контрольный показатель				

¹ – возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения ДНК определяется видом биологического материала² – на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «К+»³ – входят в состав набора реагентов при расфасовке смеси для амплификации, запечатанной парафином, в стрипы

Проведение анализа

1 Подготовка и проведение полимеразной цепной реакции

ВНИМАНИЕ!

1. При проведении всех последующих действий следует избегать воздействия прямых солнечных лучей на пробирку со смесью для амплификации!
2. При использовании набора реагентов в варианте исполнения «Фасовка S, стрипы», следует строго соблюдать комплектность стрипов и крышек к ним. Не использовать крышки к стрипам из других наборов реагентов!

- 1.1** Промаркируйте по одной пробирке/стрипованной пробирке со смесью для амплификации, запечатанной парафином, для каждого неизвестного образца, для отрицательного контрольного образца (K-) и для положительного контрольного образца (K+).

ВНИМАНИЕ! Количество реагентов рассчитано не более чем на 24 постановки при условии вариабельного количества неизвестных образцов, 1 отрицательного контрольного образца и 1 положительного контрольного образца в каждой постановке.

Пример:

Необходимо проанализировать 2 неизвестных образца. Для этого нужно промаркировать 2 пробирки для неизвестных образцов, одну пробирку для «K-» и одну пробирку для «K+». Общее количество пробирок – 4.

- 1.2** Встряхните пробирку с раствором Taq-полимеразы на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

- 1.3** Добавьте во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Taq-полимеразы.

- 1.4** Добавьте в каждую пробирку по одной капле (около 20 мкл) минерального масла. Неплотно прикройте пробирки/стрипы крышками.

- 1.5** Встряхните пробирку с положительным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

ВНИМАНИЕ!

1. Для препарата ДНК и отрицательного контрольного образца перед внесением в пробирки с реакционной смесью необходимо выполнить рекомендации по использованию препарата ДНК, приведённые в инструкции по применению набора/комплекта реагентов для выделения НК.

2. При использовании для выделения ДНК комплектов реагентов ПРОБА-НК, ПРОБА-НК-ПЛЮС, ПРОБА-ГС, ПРОБА-ГС-ПЛЮС (только в случае, если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки), необходимо встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

3. При использовании для выделения ДНК набора реагентов ПРОБА-МЧ МАКС необходимо, не встряхивая, центрифугировать пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с, затем поместить пробирки в магнитный штатив. В случае если после выделения надосадочная жидкость, содержащая выделенную ДНК, была перенесена в новые пробирки, следует встряхнуть пробирки с препаратом ДНК и отрицательным контрольным образцом на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортке в течение 1–3 с.

4. Для предотвращения контаминации следует перед внесением ДНК открывать крышки только тех пробирок, в которые будет вноситься данный образец, и закрывать их перед внесением следующего. В случае использования стрипов следует закрывать крышку стрипа после внесения в него образцов перед началом работы со следующим. Необходимо закрывать пробирки/стрипы плотно. Препараты ДНК и контрольные образцы следует вносить законечниками с фильтром.

- 1.6** Внесите в соответствующие промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 5,0 мкл выделенного из образцов препарата ДНК. В пробирки, промаркированные «K-» и «K+», ДНК не вносится.

- 1.7** Внесите в пробирку, промаркированную «K-», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл отрицательного контрольного образца, прошедшего этап выделения ДНК.

- 1.8** Внесите в пробирку, промаркированную «K+», не повреждая слой парафина, 5,0 мкл положительного контрольного образца.

- 1.9** Центрифугируйте все пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортке в течение 3–5 с.

- 1.10** Установите все пробирки/стрипы в блок детектирующего амплификатора.

- 1.11** Для детектирующих амплификаторов серии ДТ:

Запустите программное обеспечение детектирующего амплификатора. При первом проведении ПЦР загрузите соответствующий тест¹. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительного контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой (см. 1.10) и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.

- 1.12** Для детектирующих амплификаторов CFX96 и Applied Biosystems QuantStudio 5:

Проведите ПЦР с учётом объёма реакционной смеси, равного 35 мкл, по программам амплификации, приведённым в таблицах 3, 4 соответственно.

¹ – тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении А инструкции по применению) или предоставляется производителем набора реагентов

Таблица 2 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов «ДТпрайм», «ДТлайт»

№ блока	Температура, °C	мин	с	Число циклов	Режим оптических измерений	Тип блока
1	80	0	30	1		Цикл
	94	1	30			
2	94	0	30	5		Цикл
	64	0	15		✓	
3	94	0	10	45		Цикл
	64	0	15		✓	
4	94	0	5	1		Цикл
5	25 ¹	...	...	Хранение		Хранение

✓ – режим оптических измерений

Таблица 3 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов CFX96

№ блока (Step)	Температура, °C	Время, мин:сек	Количество циклов (повторов)
1	80	01:00	1
2	94	01:30	1
3	94	00:15	50
4	64 ✓	00:20	

✓ – режим оптических измерений (Plate Read), установить измерение флуоресценции по необходимым каналам детекции (Fam, Hex, Rox, Cy5) при 64 °C

Таблица 4 – Программа амплификации для детектирующих амплификаторов Applied Biosystems QuantStudio 5

Стадия	№ шага	Температура, °C	Время, мин:сек	Количество циклов (повторов)
Стадия удержания	1	80	01:00	1
	2	94	01:30	1
Стадия ПЦР	1	94	00:20	50
	2	64 ✓	00:20	

✓ – сбор данных для необходимых флуорофоров (Fam, Vic (Hex), Rox, Cy5) включён

2 Регистрация и учёт результатов ПЦР проводятся автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов.

При использовании детектирующих амплификаторов CFX96 следует использовать регрессионный тип анализа (Cq Determination Mode: Regression), во вкладке «Baseline Subtraction» необходимо выбрать «Baseline Subtraction Curve Fit».

Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицами 5, 6. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Таблица 5 – Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции				Интерпретация результата
Fam, Cp/Cq/Ct	Hex/Vic, Cp/Cq/Ct	Rox, Cp/Cq/Ct	Cy5, Cp/Cq/Ct	
Неизвестные образцы				
< 37	> 39 или не указан	Не указан	Не учитывается	Обнаружена ДНК <i>Campylobacter coli/jejuni</i>
Не указан	< 37	Не указан	Не учитывается	Обнаружена ДНК <i>Salmonella</i> spp.
Не указан	> 39 или не указан	< 37	Не учитывается	Обнаружена ДНК <i>Shigella/EIEC</i>
Не указан	> 39 или не указан	Не указан	≤ 35	Не обнаружена ДНК выявляемых микроорганизмов
≥ 37 или не указан	> 39 или не указан	≥ 37 или не указан	> 35 или не указан	Недостовверный результат ²
Отрицательный контрольный образец				
Не указан	> 39 или не указан	Не указан	> 35 или не указан	Отрицательный результат Результаты постановки валидны
Положительный контрольный образец				
Указан	Указан	Указан	Указан	Положительный результат Результаты постановки валидны

¹ – допускается хранение при температуре 10 °C² – требуется повторное проведение ПЦР с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР для этого образца, либо повторное взятие биологического материала у пациента (выполняется последовательно)

Т а б л и ц а 6 – Другие возможные результаты ПЦР

Канал детекции				Интерпретация результата*
Fam, Cp/Cq/Ct	Hex/Vic, Cp/Cq/Ct	Rox, Cp/Cq/Ct	Cy5, Cp/Cq/Ct	
Неизвестные образцы				
≥ 37	> 39 или не указан	Не указан	≤ 35	Низкое содержание ДНК <i>Campylobacter coli/jejuni</i>
Не указан	≥ 37, но ≤ 39	Не указан	≤ 35	Низкое содержание ДНК <i>Salmonella spp.</i>
Не указан	> 39 или не указан	≥ 37	≤ 35	Низкое содержание ДНК <i>Shigella/EIEC</i>
* – если при значении Cp/Cq/Ct по каналу детекции Cy5 ≤ 35, по каналу детекции Hex/Vic значение Cp/Cq/Ct ≥ 37, но ≤ 39 и/или по каналам детекции Fam и/или Rox значение Cp/Cq/Ct ≥ 37, то полученный результат указывает на низкое содержание специфической ДНК, которое может быть связано с низкой нагрузкой в неизвестном образце, с перекрёстной контаминацией высококопийными образцами или с ингибированием ПЦР. Следует однократно провести повторное взятие биоматериала и/или повторное выделение ДНК и проведение ПЦР. В случае повторения результата, следует выдать итоговый результат «Обнаружена ДНК ...».				

При анализе результатов необходимо учитывать значение общей бактериальной массы (ОБМ, канал детекции Cy5): Значение Cp/Cq/Ct ОБМ > 35 при отсутствии специфических положительных результатов в пробирке следует интерпретировать как недостаточное количество материала или возможное ингибирование ПЦР. Результат амплификации – «нд».

При получении для отрицательного контрольного образца результатов, отличающихся от значений, указанных в таблице 5, результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для выявления и устранения возможной контаминации.

При получении для положительного контрольного образца результатов, отличающихся от значений, указанных в таблице 5, требуется повторная постановка амплификации всей партии образцов.

Условия транспортирования, хранения и эксплуатации

Транспортирование набора реагентов осуществляют в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера, соответствующей условиям хранения компонентов, входящих в состав набора реагентов.

Допускается транспортирование набора реагентов в термоконтейнерах с хладоэлементами всеми видами крытого транспорта при температуре внутри термоконтейнера от 2 °С до 25 °С не более 5 суток.

Все компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности набора реагентов. Смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в защищенном от света месте.

Срок годности набора реагентов – 12 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов, следует обращаться в службу клиентской поддержки.