

Регистрационное удостоверение  
№ РЗН 2025/25518 от 30 мая 2025 года

Служба клиентской поддержки:  
8-800-200-75-15 (для России, звонок бесплатный),  
+7 (495) 640-16-93 (для стран СНГ и зарубежья,  
звонок платный).  
E-mail: hotline@dna-technology.ru,  
www.dna-technology.ru



В данном вкладыше приведена информация для набора реагентов **Shigella/EIEC и Salmonella spp.** в фасовке S. Перед началом работы изучите инструкцию.

## **Набор реагентов для выявления ДНК бактерий *Shigella/EIEC* и *Salmonella spp.* методом ПЦР в режиме реального времени**

### **Shigella/EIEC и Salmonella spp.**

**REF R1-P503-23/9 (Фасовка S, пробирки)**  
**R1-P503-S3/9 (Фасовка S, стрипы)**

#### **Информация о наборе реагентов**

##### **Назначение:**

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

##### **Выделение ДНК<sup>1</sup>:**

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»).

##### **Специализированное оборудование:**

Детектирующие амплификаторы планшетного и роторного типа с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме реального времени, зарегистрированные в установленном порядке в РФ, например, детектирующие амплификаторы «ДТрайм»<sup>2</sup>, «ДТлайт»<sup>3</sup> (ООО «НПО ДНК-Технология»), CFX96 (Био-Рад Лаборатории, Инк.).

##### **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 объём 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 Таq-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 <sup>4</sup>	Прозрачная бесцветная жидкость	1 пробирка	130 мкл
Крышки для стрипов <sup>5</sup>		12 шт.	

Таблица 1 – Каналы детекции продуктов амплификации

Fam	Hex	Rox	Cy5	Cy5.5
ОБМ*	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Shigella/EIEC(ipaH)</i>	<i>Shigella/EIEC(invE)</i>	-

\* – контрольный показатель

<sup>1</sup> – возможность использования набора/комплекта реагентов для выделения ДНК определяется видом биологического материала

<sup>2</sup> – модификация \*M\*

<sup>3</sup> – модификация \*S\*

<sup>4</sup> – на этикетке компонента для всех фасовок «Положительный контрольный образец» указывается как «K+»

<sup>5</sup> – 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 пробирки 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 (К-) и для положительного контрольного образца (К+).

**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 «К-» и одну пробирку для «К+». Общее количество пробирок – 4.

### 1.2 Встряхните пробирку с раствором Таq-полимеразы на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе в течение 1–3 с.

### 1.3 Добавьте во все промаркированные пробирки, не повреждая слой парафина, по 10 мкл раствора Таq-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-вортексе в течение 3–5 с и центрифугируйте на микроцентрифуге-вортексе 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 и 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-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе 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-вортексе 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 «К-» на микроцентрифуге-вортексе в течение 3–5 с и центрифугировать на микроцентрифуге-вортексе 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 наконечниками 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 «К-», «К+», ДНК не вносится.

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

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

### 1.9 Центрифугируйте все пробирки/стрипы на микроцентрифуге-вортексе 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 тест<sup>1</sup>. Далее и при последующих постановках создайте соответствующий протокол исследования: укажите количество и идентификаторы образцов, в том числе отрицательного и положительных контрольных образцов, отметьте расположение пробирок/стрипов на матрице термоблока в соответствии с их установкой и проведите ПЦР. При выборе теста должна отображаться программа, приведённая в таблице 2.

### 1.12 Для детектирующих амплификаторов CFX96:

Проведите ПЦР с учетом объема реакционной смеси, равного 35 мкл, по программе амплификации, приведённой в таблице 3.

<sup>1</sup> – тест для детектирующих амплификаторов серии ДТ создаётся путём ввода параметров (параметры теста указаны в Приложении А инструкции по применению) или предоставляемся 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 <sup>1</sup>	...	...	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	0:15	50
4	64 ✓	0:20	

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

- 2 Регистрация и учёт результатов ПЦР** проводятся автоматически программным обеспечением для детектирующих амплификаторов.  
При использовании детектирующих амплификаторов CFX96 следует использовать регрессионный тип анализа (Ca Determination Mode: Regression), во вкладке «Baseline Subtraction» необходимо выбрать «Baseline Subtraction Curve Fit».  
Интерпретация результатов проводится в соответствии с таблицами 4, 5. Результаты постановки валидны, если выполняются условия интерпретации результатов, полученных для контрольных образцов.

Таблица 4 – Интерпретация результатов ПЦР

Канал детекции			Интерпретация результата
Fam, Cp/Cq	Hex, Cp/Cq	Rox, Cy5, Cp/Cq	
<b>Неизвестные образцы</b>			
Не учитывается	< 37	Не указан (по двум каналам детекции)	Обнаружена ДНК <i>Salmonella</i> spp., не обнаружена ДНК <i>Shigella</i> /EIEC
Не учитывается	> 39 или не указан	< 37 (по одному или двум каналам детекции)	Обнаружена ДНК <i>Shigella</i> /EIEC, не обнаружена ДНК <i>Salmonella</i> spp.
Не учитывается	< 37	< 37 (по одному или двум каналам детекции)	Обнаружена ДНК <i>Salmonella</i> spp. и <i>Shigella</i> /EIEC
≤ 35	> 39 или не указан	Не указан (по двум каналам детекции)	Не обнаружена ДНК <i>Salmonella</i> spp. и <i>Shigella</i> /EIEC
> 35 или не указан	> 39 или не указан	Не указан (по двум каналам детекции)	Недостоверный результат <sup>2</sup>
<b>Оригинальный контрольный образец</b>			
> 35 или не указан	> 39 или не указан	Не указан (по двум каналам детекции)	<b>Оригинальный результат</b> Результаты постановки валидны
<b>Положительный контрольный образец</b>			
Указан	Указан	Указан (по двум каналам детекции)	<b>Положительный результат</b> Результаты постановки валидны

<sup>1</sup> – допускается хранение при температуре 10 °C<sup>2</sup> – требуется повторное проведение ПЦР с имеющимся препаратом ДНК, либо повторное выделение ДНК и постановка ПЦР, либо повторное взятие биологического материала у пациента (выполняется последовательно)

Таблица 5 – Другие возможные результаты ПЦР

Канал детекции			Интерпретация результата*
Fam, Cp/Cq	Hex, Cp/Cq	Rox, Cy5, Cp/Cq	
<b>≤ 35</b>	<b>≥ 37, но ≤ 39</b>	Не указан (по двум каналам детекции)	<b>Низкое содержание ДНК <i>Salmonella</i> spp., не обнаружена ДНК <i>Shigella/EIEC</i></b>
<b>≤ 35</b>	> 39 или не указан	<b>≥ 37</b> (по одному или двум каналам детекции)	<b>Низкое содержание ДНК <i>Shigella/EIEC</i>, не обнаружена ДНК <i>Salmonella</i> spp.</b>
<b>≤ 35</b>	<b>≥ 37, но ≤ 39</b>	<b>≥ 37</b> (по одному или двум каналам) детекции)	<b>Низкое содержание ДНК <i>Salmonella</i> spp. и <i>Shigella/EIEC</i></b>

\* – если при значении Cp/Cq по каналу детекции Fam ≤ 35, по каналу детекции Hex значение Cp/Cq ≥ 37, но ≤ 39 и/или по каналам детекции Rox и/или Cy5 значение Cp/Cq ≥ 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 ингибиованием 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 Fam):  
Значение Cp/Cq ОБМ > 35 при отсутствии специфических положительных результатов в пробирке следует интерпретировать как недостаточное количество материала или возможное ингибиование ПЦР. Результат амплификации – «нд».

При получении для отрицательного контрольного образца результатов, отличающихся от значений, указанных в таблице 4, результаты всей постановочной серии считаются 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 4, 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 °C до 25 °C не более 5 суток.

Все компоненты набора реагентов следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °C до 8 °C в течение всего срока годности набора реагентов.

Смесь для амплификации, запечатанную парафином, следует хранить в холодильнике или холодильной камере при температуре от 2 °C до 8 °C в защищённом 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.