

## Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза

### Информация о комплекте

Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза является универсальным, поставляется по запросу клиента, включен в состав следующих наборов реагентов производства ООО «НПО ДНК-Технология»:

ТОКС-ГЕН (РУ ФСР 2008/03944), ХЛАМИ-ГЕН (РУ ФСР 2008/03890), ВГБ-ГЕН (РУ ФСР 2008/03507), ПЛАЗМОГЕН-Мх (РУ ФСР 2008/02551), ПЛАЗМОГЕН-Мг (РУ ФСР 2008/02550), ГАРД-ГЕН (РУ ФСР 2008/03846), КАНД-ГЕН (РУ ФСР 2008/03847), ТРИХО-ГЕН (РУ ФСР 2008/03848), ЦМВ-ГЕН (РУ ФСР 2008/03945), ВПГ-ГЕН (РУ ФСР 2008/03946), МИКО-ГЕН (РУ ФСР 2008/03849), ВПЧ-ГЕН-16/18 (РУ ФСР 2008/03845), ГОНО-ГЕН (РУ ФСР 2008/03850), БОРРЕЛИО-ГЕН (РУ ФСР 2008/03505), ОТ-ГЕПАТОГЕН-С (РУ ФСР 2008/03892), ПЛАЗМОГЕН-УП (РУ ФСР 2009/04072), EBV (РУ ФСР 2010/06934), HNV6 (РУ ФСР 2010/06932), HNV8 (РУ ФСР 2010/06933). Полные инструкции к указанным наборам реагентам доступны на сайте компании по адресу <http://www.dna-technology.ru/dnaproducts/reagents/med/>

#### 1 НАЗНАЧЕНИЕ

- 1.1 Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза предназначен для определения и анализа продуктов амплификации после проведения ПЦР.
- 1.2 Комплект реагентов может быть использован в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений и научно-исследовательской практике.

#### 2 ХАРАКТЕРИСТИКА КОМПЛЕКТА

##### 2.1 Состав комплекта

Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза включает:

- Агарозный гель (2,3 %) – 5 пластин;
- Смесь для электрофореза – 1 пакет (9,55 г).

2.2 **Число анализируемых проб.** Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза включает пять готовых 2,3 % агарозных гелей размером 8,0 x 5,5 см, по 30 лунок каждый.

2.3 **Принцип метода.** Электрофорез продуктов амплификации в агарозном геле с последующей детекцией в ультрафиолетовом свете; качественный анализ.

#### 3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Работа должна проводиться в лаборатории, выполняющей молекулярно-биологические ПЦР исследования клинического материала с соблюдением методических указаний МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности», и с соблюдением санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3. 3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности).

К работе с комплектом реагентов допускается только персонал, обученный методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории.

Выполнение работ должно осуществляться отдельным персоналом, не задействованным на других этапах проведения анализа.

Все лабораторное оборудование, в том числе пипетки, штативы, лабораторная посуда, халаты, головные уборы и пр., а также растворы реагентов должны быть строго стационарными. Запрещается их перемещение из одного помещения в другое.

Рабочая зона (помещение) должна быть обеспечена необходимым количеством комплектов спецодежды (комбинезон или пижама, медицинский халат, шапочка, одноразовые латексные (резиновые) перчатки и сменная обувь). При работе в помещении детекции продуктов амплификации следует надевать одноразовые бахилы. Использование одежды из другой зоны запрещено. Рекомендуется использование одноразовой одежды.

Надевание и снятие защитной одежды должно производиться в предбюксах. В каждом из них должен быть отдельный комплект защитной одежды и обуви.

Дозаторы, используемые при работе с набором, должны быть соответствующим образом поверены (в аккредитованных лабораториях) и промаркированы.

Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.

При использовании комплекта в клинико-диагностической лаборатории образуются отходы классов А и Б которые классифицируются и утилизируются в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

Ежедневно в конце рабочего дня должна проводиться текущая влажная уборка полов разрешенными к применению дезинфицирующими средствами.

Рабочая зона должна быть обеспечена промаркированным набором уборочного инвентаря, не допускается использование индивидуального уборочного инвентаря для уборки других помещений лаборатории.

Рабочая зона должна подвергаться ежедневному обеззараживанию ультрафиолетовым излучением после окончания работы в соответствии с руководством «Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях» Р 3.5.1904-04., М.: 2005.

Для инактивации ампликонов применяют облучение ультрафиолетом. Для обработки поверхностей столов, оборудования, инструментов применяют 0,2 %-ный раствор ДП-2Т или аналогичные ему растворы, разрешенные к применению для этих целей в установленном порядке.

При работе с комплектом реагентов использовать средства индивидуальной защиты для предотвращения контакта с организмом человека.



Агарозный гель содержит бромид этидия (менее 0,01%)(указание на риски: H302, H341).

H302 – Вредно при проглатывании.

H341 - Предположительно вызывает генетические дефекты.

После окончания работы тщательно вымыть руки. Избегать контакта с кожей, глазами и слизистой оболочкой. При контакте промыть пораженное место водой и обратиться за медицинской помощью.

Запрещается снимать крышку с электрофоретической камеры, если она подключена к источнику питания.

При работе с включенным трансиллюминатором необходимо пользоваться защитным экраном или специальной защитной маской.

Не использовать комплект реагентов:

- при нарушении условий транспортирования и хранения;
- при несоответствии внешнего вида реагентов указанному в паспорте к комплекту;
- при нарушении внутренней упаковки компонентов комплекта;
- по истечению срока годности комплекта.

Комплект реагентов при использовании по назначению и соблюдении мер предосторожности является безопасным.

#### **4 МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ**

При работе с комплектом реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза требуются следующие оборудование и материалы:

- ПЦР-бокс;
- устройство для электрофореза нуклеиновых кислот в агарозных и акриламидных гелях УЭФ-01 (ОО «НПО ДНК-Технология») или аналогичное;
- трансиллюминатор ультрафиолетовый (флуоскоп), длина волны: 254 нм или 312 нм;
- холодильник бытовой;
- штатив «рабочее место» для пробирок объемом 0,5 мл или 0,2 мл;
- дозаторы механические или электронные одноканальные с переменным объемом, позволяющие отбирать объемы жидкости 2,0–20 мкл, 20–200 мкл;
- одноразовые наконечники, свободные от РНКаз и ДНКаз с фильтром, объемом 20 мкл, 200 мкл;
- колба мерная, вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- стальная проволока диаметром 1,0 мм;
- одноразовые перчатки медицинские, без талька, текстурированные;
- маркер длин амплифицированных фрагментов;
- ёмкость с дезинфицирующим раствором для сброса использованных наконечников, пробирок и других расходных материалов;
- дезинфицирующее средство;
- пластиковая ёмкость объемом 5 литров для дезактивации буфера и гелей, содержащих бромид этидия.

#### **5 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

##### **5.1 Приготовление буферного раствора для электрофореза**

**5.1.1** Содержимое пакета «Смесь для электрофореза» перенесите в ёмкость объемом 1,0 л, добавьте 700 мл дистиллированной воды, перемешайте до полного растворения. Для достижения наилучшего эффекта рекомендуется использовать магнитную мешалку.

**5.1.2** Перенесите раствор в мерный цилиндр на 1,0 л и доведите объем дистиллированной водой до 1000 мл.

**5.1.3** Готовый буферный раствор для электрофореза (далее – буферный раствор) перелите в ёмкость для хранения с плотно закрывающейся крышкой и перемешайте перемешиванием.

Буферный раствор можно хранить при комнатной температуре от 18 °С до 25 °С не более одной недели или при температуре от 2 °С до 8 °С не более одного месяца.

##### **5.2 Подготовка и проведение электрофореза**

**5.2.1** Заполните камеру для электрофореза буферным раствором и поместите пластину с агарозным гелем в камеру.

Примечания

1. Буферный раствор для электрофореза должен покрывать пластину с гелем слоем приблизительно

3-5 мм.

2. При образовании в лунках геля пузырьков воздуха, после погружения геля в буферный раствор, их необходимо удалить.

**ВНИМАНИЕ!** При работе с агарозным гелем следует обязательно надевать резиновые перчатки!

- 5.2.2** Откройте крышки пробирок с продуктами амплификации и осторожно внесите по 7,0 мкл содержимого каждой пробирки в соответствующую лунку агарозного геля под буферный раствор.

**Примечания**

1. Для внесения проб используйте дозатор со сменными наконечниками. Наконечник можно использовать многократно, промывая его пипетированием в дистиллированной воде перед добавлением следующей пробы.
2. При работе с продуктами ПЦР из пробирок, запечатанных парафином, необходимо проколоть в парафине отверстие диаметром примерно 2-3 мм с помощью стальной проволоки. После прокалывания каждой пробирки проволоку промыть в ёмкости с водопроводной водой.

- 5.2.3** Для проведения электрофоретического разделения продуктов амплификации установите крышку камеры для электрофореза и подключите источник постоянного тока. Электрофорез проводится в направлении от катода (-) к аноду (+) в течение 15–20 мин, напряжённость электрического поля 10–20 В/см при ширине камеры 10 см. Напряжение, устанавливаемое в источнике постоянного тока, должно быть приблизительно 200–220 В. Фронт красителя, входящего в состав реакционной смеси, должен пройти не менее 2,0 см.

- 5.2.4** После окончания электрофореза отключите источник постоянного тока и снимите крышку с камеры.

- 5.2.5** Извлеките пластину с агарозным гелем из камеры для электрофореза, снимите гель с пластины, подцепив его с края, и поместите на стекло трансиллюминатора.

- 5.2.6** Наденьте защитную маску или установите защитный экран, включите трансиллюминатор и проанализируйте полученные результаты. Продукт амплификации виден в ультрафиолетовом свете (длина волны 254 нм или 310 нм) в виде светящейся полосы красно-оранжевого цвета.

**Примечание** – Для документирования геля необходимо зарегистрировать с помощью видеосистемы, соединённой с компьютером.

## **5.3 Регистрация и учёт результатов**

**ВНИМАНИЕ!** Учёт результатов проводится согласно инструкции к комплекту реагентов для ПЦР-амплификации ДНК с последующей детекцией методом гель-электрофореза (формат «Форез»).

- 5.3.1** В положительных образцах должны быть видны полосы оранжево-красного цвета на уровне полосы положительного контрольного образца, соответствующие фрагменту генома выявляемого микроорганизма. Наличие или отсутствие полосы, соответствующей внутреннему контрольному образцу в этом случае в учёт не принимаются.

- 5.3.2** В отрицательных образцах, в том числе в отрицательном контрольном образце, светящиеся полосы оранжево-красного цвета, соответствующие фрагменту генома выявляемого микроорганизма должны отсутствовать, а полоса, соответствующая внутреннему контрольному образцу должна быть отчётливо видна.

- 5.3.3** В случае отсутствия в исследуемом образце полосы оранжево-красного цвета, соответствующие фрагменту генома выявляемого микроорганизма и отсутствия полосы оранжево-красного цвета, соответствующей внутреннему контрольному образцу результат считают недостоверным.

- 5.3.4** Получение недостоверного результата может быть вызвано с присутствием ингибиторов в препарате ДНК, полученном из клинического материала; неверным выполнением протокола анализа; несоблюдением температурного режима амплификации и др. В этом случае требуется либо повторная постановка амплификации препарата ДНК, либо повторное выделение препарата ДНК для этого образца, либо повторное взятие клинического материала у пациента (выполняется последовательно).

- 5.3.5** В случае наличия полосы, соответствующие фрагменту генома выявляемого микроорганизма, в отрицательном контрольном образце «К-», результаты всей постановочной серии считают недостоверными. В этом случае необходимо проведение специальных мероприятий для устранения возможной контаминации.

## **6 УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ КОМПЛЕКТА**

### **6.1 Транспортирование**

Транспортирование комплекта реагентов осуществляют всеми видами крытого транспорта при температурах, соответствующих условиям хранения компонентов, входящих в состав комплекта реагентов.

Комплекты реагентов, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

### **6.2 Хранение**

Комплект реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза следует хранить в холодильниках или холодильных камерах при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности.

Наборы реагентов, хранившиеся с нарушением регламентированного режима, применению не подлежат.

### **6.3 Указания по эксплуатации**

Комплект реагентов должен применяться согласно действующей версии утверждённой инструкции по применению. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению комплекта реагентов.

После вскрытия упаковки компоненты комплекта реагентов следует хранить при следующих условиях:

- компоненты комплекта реагентов следует хранить в холодильниках или холодильных камерах при температуре от 2 °С до 8 °С в течение всего срока годности комплекта реагентов.

## 7 УКАЗАНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ

7.1 Комплекты реагентов, пришедшие в непригодность, в том числе в связи с истечением срока годности и неиспользованные реактивы, подлежат утилизации в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.2790-10 и МУ 1.3.2569-09.

**ВНИМАНИЕ!** Компоненты с наличием предупредительных знаков об опасности следует уничтожать с соблюдением соответствующих мер безопасности в соответствии с действующим законодательством Российской Федерации.

7.2 Гели, содержащие бромид этидия, утилизировать в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09<sup>1</sup>.

7.3 Упаковка комплекта реагентов (полиэтиленовые пакеты с замком и коробки из картона) относится к отходам класса А и утилизируется с бытовыми отходами.

## 8 ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

8.1 Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие комплекта реагентов требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и эксплуатации, установленных техническими условиями.

8.2 Срок годности комплекта реагентов - 6 месяцев при соблюдении всех условий транспортирования, хранения и эксплуатации.

## 9 АДРЕС ДЛЯ ОБРАЩЕНИЯ

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для детекции ДНК методом гель-электрофореза, следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:













ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, корп.6, тел./факс +7 (495) 640-17-71.

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

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:  
[http://www.dna-technology.ru/customer\\_support/](http://www.dna-technology.ru/customer_support/)

### Символы, используемые при маркировке комплекта реагентов

	Только для in vitro диагностики		Серия набора		Каталожный номер
	Температурный диапазон		Дата производства		Адрес производителя
	Количество определений		Содержит инструкцию по применению		Не допускается воздействие солнечного света
	Годен до		Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению		Содержит опасные вещества

<sup>1</sup> Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности: Методические указания.– М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. С.48-49.