

cobas[®] cfDNA Sample Preparation Kit

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*



cobas[®] cfDNA Sample Preparation Kit 24 Tests M/N: 07247737190

SPIS TREŚCI

Przeznaczenie.....	3
Zasady procedury	3
Przygotowanie próbek.....	3
Materiały i odczynniki.....	4
Dostarczone materiały i odczynniki	4
Przechowywanie i użytkowanie odczynników.....	6
Wymagane materiały dodatkowe.....	6
Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania.....	7
Ostrzeżenia i środki ostrożności	7
Dobra praktyka laboratoryjna	7
Zanieczyszczenie.....	8
Integralność.....	8
Utylizacja	8
Rozlanie płynów i czyszczenie	8
Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	9
Pobieranie próbek i praca z próbkami	9
Transport, przechowywanie i stabilność próbek	9
Przechowywanie i stabilność próbki przetworzonej	9
Procedura przygotowania próbek	9
Użycie zestawu.....	9
Instrukcja użytkowania	9
Dodatkowe informacje.....	12
Oznaczenia	12
Pomoc techniczna	13
Wytwórca i dystrybutor.....	13
Znaki towarowe i patenty.....	13
Prawo autorskie	13
Piśmiennictwo	13
Wersja dokumentu.....	14

Przeznaczenie

Zestaw **cobas**® cfDNA Sample Preparation Kit służy do manualnego przygotowywania próbek w celu izolacji krążącego pozakomórkowego DNA (ang. *cell-free DNA*, cfDNA) z próbek osocza.

Zasady procedury

Przygotowanie próbek

Próbki osocza są przetwarzane w celu izolowania cfDNA przy użyciu zestawu **cobas**® cfDNA Sample Preparation Kit, ogólnego manualnego przygotowywania próbek opartego na związaniu kwasu nukleinowego do włókien szklanych. Dwa mililitry (ml) osocza są przetwarzane za pomocą proteazy i chaotropowego buforu wiążącego, który chroni cfDNA przed DNazami. W dalszej kolejności do mieszaniny, w której przebiegło wiązanie, dodaje się izopropanol, po czym mieszaninę wiruje się i przepuszcza przez kolumnę z wkładem filtrującym, zawierającym włókna szklane. W trakcie wirowania cfDNA ulega związaniu na powierzchni włókien szklanych filtra. Substancje niezwiązane, takie jak sole, białka i inne zanieczyszczenia, zostają usunięte w wyniku wirowania. Związane kwasy nukleinowe są przemywane i poddane elucji roztworem wodnym.

Materiały i odczynniki

Dostarczone materiały i odczynniki

Zestaw/kasety	Elementy i składniki odczynników	Ilość na test	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® cfDNA Sample Preparation Kit 24 testów (M/N: 07247737190)	PK (Proteinaza K) (M/N: 05860695102) Proteinaza K, liofilizowana ^b	2 × 100 mg	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H315: Działa drażniąco na skórę. H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H319: Działa drażniąco na oczy. H334: Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. H335: Może powodować podrażnienie dróg oddechowych. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P280: Stosować rękawice ochronne/ochronę oczu/ochronę twarzy. P284: Stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. P304 + P340 + P312: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P342 + P311: W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.
cobas® cfDNA Sample Preparation Kit 24 testów (M/N: 07247737190)	DNA PBB (Bufor parafinowy ^c wiążący DNA) (M/N: 05517621001) Bufor Tris-HCl 49,6% chlorowodoru guanidyny ^b 0,05% mocznik 20% detergentu niejonowego ^b	8 × 10 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H302: Działa szkodliwie po połknięciu. H315: Działa drażniąco na skórę. H318: Powoduje poważne uszkodzenie oczu. P264: Dokładnie umyć skórę po użyciu. P270: Nie jeść, nie pić i nie palić podczas używania produktu. P280: Stosować rękawice ochronne/ochronę oczu/ochronę twarzy. P301 + P312 + P330: W PRZYPADKU POŁKNIECIA: w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. Wypłukać usta. P302 + P352: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P332 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 50-01-1 Hydrochlorek guanidyny (1:1) 900292-0 Poli(oksy-1,2-etanodiy), alfa-dodecylo-omega-hydroksy-

Zestaw/kasety	Elementy i składniki odczynników	Ilość na test	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® cfDNA Sample Preparation Kit 24 testów (M/N: 07247737190)	WB I (Bufor wypłukujący DNA I) (M/N: 05517656001) Bufor Tris-HCl 64% chlorowodoru guanidyny ^b	1 × 25 ml	 OSTRZEŻENIE H302 + H332: Działa szkodliwie po połknięciu i w następstwie wdychania. H315: Działa drażniąco na skórę. H319: Działa drażniąco na oczy. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P264: Dokładnie umyć skórę po użyciu. P280: Stosować rękawice ochronne/ochronę oczu/ochronę twarzy. P304 + P340 + P312: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. w przypadku złego samopoczucia skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P337 + P313: W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów.
	WB II (Bufor wypłukujący DNA II) (M/N: 05517664001) Bufor Tris-HCl Chlorek sodu	1 × 12,5 ml	Nie dotyczy
	DNA EB (Bufor do elucji DNA) (M/N: 05517630001) Bufor Tris-HCl 0,09% azydki sodu	1 × 6 ml	Nie dotyczy
	HPEA FT (Moduł jednostki przedłużającej o wysokiej czystości) (M/N: 07323204102) Probówki z filtrem i z zatyczkami	5 × 5 sztuk	Nie dotyczy
	CT (Probówki zbiorcze) (M/N: 05880513001)	3 × 25 sztuk	Nie dotyczy

^a Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

^b Substancja niebezpieczna.

^c Bufor wiążący parafinę jest stosowany do próbek osocza.

Przechowywanie i użytkowanie odczynników

Odczynnik	Temperatura przechowywania	Czas przechowywania
cobas® cfDNA Sample Preparation Kit	15–30°C	Po otwarciu i rozpuszczeniu odczynnik zachowują stabilność przez maksymalnie 90 dni lub do upływu podanej daty ważności, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.

Uwaga: nie wolno zamrażać odczynników z wyjątkiem odczynnika **PK**.

Uwaga: przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdy odczynnik, aby upewnić się, że nie ma żadnych oznak wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.

Uwaga: po dodaniu do odczynnika **PK** jałowej wody niezawierającej nukleazy nieużyty, rozpuszczony odczynnik **PK** należy przechowywać w porcjach o równych objętościach po 450 µl w temperaturze –20°C. Po rozpuszczeniu odczynnik **PK** trzeba zużyć w ciągu 90 dni albo do daty ważności, zależnie od tego, który termin wypada wcześniej. Po dodaniu etanolu bezwodnego odczynnik **WB I** i **WB II** należy przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C. Wymienione roztwory robocze zachowują stabilność przez 90 dni lub do daty ważności, w zależności od tego, który termin wypada wcześniej.

Wymagane materiały dodatkowe

Materiały	P/N
Etanol bezwodny (200 proof, do biologii molekularnej)	Dowolny dostawca
Izopropanol (ACS, ≥ 99,5%)	Dowolny dostawca
Jałowa woda wolna od nukleazy (o czystości do biologii molekularnej)	Dowolny dostawca
Wybielacz	Dowolny dostawca
70% etanol	Dowolny dostawca
Jałowe, jednorazowe, serologiczne pipety 5 i 25 ml	Dowolny dostawca
Pipety regulowane* (mogące pipetować 5–1000 µl)	Dowolny dostawca
Wolne od DNaz końcówki z osłoną aerizującą lub wyrzutnikiem	Dowolny dostawca
Pipet-Aid™*	Dowolny dostawca
Wirówka laboratoryjna* (umożliwiająca wirowanie przy 6000 × g dla probówek stożkowych o pojemności 50 ml w rotorze wychylnym)	Dowolny dostawca
Mikrowirówka laboratoryjna* (umożliwiająca wirowanie przy 20 000 × g)	Dowolny dostawca
Jałowe plastikowe probówki stożkowe o pojemności 15 ml	Dowolny dostawca
Probówki do mikrowirówki z zamykanym wieczkiem (jałowe o pojemności 1,5 ml, wolne od RNaz/DNaz, o czystości do PCR)	Dowolny dostawca
Mieszadło wibracyjne*	Dowolny dostawca
Zamrażarka umożliwiająca przechowywanie w temperaturze od –25°C do –15°C	Dowolny dostawca
Statywy na wirówki stożkowe i do mikrowirówki	Dowolny dostawca
Rękawiczki jednorazowe bezpudrowe	Dowolny dostawca

* Całe wyposażenie powinno być odpowiednio konserwowane, zgodnie z instrukcjami producenta.

W celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących materiałów sprzedawanych oddzielnie prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielstwem firmy Roche.

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Podobnie jak w przypadku każdej procedury testowej, dla prawidłowego posługiwania się zestawem Sample Preparation Kit kluczowe znaczenie ma zachowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Karty charakterystyki są dostępne na żądanie w lokalnym biurze firmy Roche.
- Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując laboratoryjne procedury bezpieczeństwa, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological Laboratories¹ oraz CLSI Document M29-A4².
- Odczynnik **DNA PBB** zawiera detergent niejonowy, drażniący błony śluzowe. Należy unikać kontaktu tych odczynników z oczami, skórą i błonami śluzowymi.

Uwaga: dostępny w handlu płynny wybielacz przeznaczony do zastosowań domowych zazwyczaj zawiera podchloryn sodu o stężeniu 5,25%. Rozcieńczenie domowego wybielacza w stosunku 1:10 daje 0,5% roztwór podchlorynu sodu.

- Zaleca się używanie jałowych jednorazowych pipet oraz końcówek pipet niezawierających DNazy.
- Ścisłe przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Należy poinformować lokalny właściwy organ o wszelkich poważnych zdarzeniach, które mogą wystąpić podczas stosowania tego testu.

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie wolno jeść, pić ani palić w obszarach roboczych laboratorium.
- Po zakończeniu pracy z próbkami i odczynnikami testowymi należy dokładnie umyć ręce.
- Podczas pracy z jakimikolwiek odczynnikami należy używać osłony oczu oraz fartuchów laboratoryjnych i rękawic jednorazowych. Należy unikać kontaktu wymienionych materiałów ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, miejsce tego kontaktu należy natychmiast spłukać dużą ilością wody. Jeżeli nie zostaną podjęte odpowiednie działania lecznicze, może dojść do oparzeń. W razie rozlania przed wytarciem należy rozcieńczyć wodą.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,5% podchlorynu sodu w wodzie destylowanej lub dejonizowanej (rozcieńczyć domowy wybielacz w stosunku 1:10). Następnie przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.

Uwaga: dostępny w handlu płynny wybielacz przeznaczony do zastosowań domowych zazwyczaj zawiera podchloryn sodu o stężeniu 5,25%. Rozcieńczenie domowego wybielacza w stosunku 1:10 daje 0,5% roztwór podchlorynu sodu.

Zanieczyszczenie

- W celu zapobieżenia zanieczyszczeniu konieczne jest noszenie rękawic i ich zmiana pomiędzy pracą z próbkami a odczynnikami zestawu **cobas®** cfDNA Sample Preparation Kit. Podczas pracy z próbkami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek.
- Rękawiczki należy często zmieniać, aby ograniczyć możliwość zanieczyszczenia.
- Rękawiczki należy zmieniać przed opuszczeniem obszarów izolacji DNA lub w przypadku podejrzenia kontaktu z roztworami lub próbką.
- Należy unikać zanieczyszczenia odczynników przez rybonukleazy i zanieczyszczenia mikrobiologicznego.
- Materiały i urządzenia powinny być przeznaczone do każdego z działań; nie mogą być stosowane w innych działaniach lub przenoszone pomiędzy obszarami. Na przykład pipety i materiały przeznaczone do izolacji DNA nie mogą być stosowane do przygotowywania odczynników do amplifikacji i detekcji.
- Zdecydowanie zaleca się, aby przebieg pracy w laboratorium był jednokierunkowy i polegał na zakończeniu jednej czynności przed przejściem do kolejnej. Na przykład izolację DNA należy zakończyć przed rozpoczęciem amplifikacji i detekcji. Izolacja DNA powinna być prowadzona w obszarze oddzielnym od amplifikacji i detekcji.

Integralność

- Nie wolno używać zestawów po upływie daty ważności.
- Nie należy mieszać odczynników pochodzących z różnych zestawów lub serii.
- Nie wolno używać przedmiotów jednorazowego użytku po upływie daty ważności.
- Wszystkie przedmioty jednorazowego użytku są przeznaczone do jednokrotnego użycia. Nie wolno wykorzystywać ich ponownie.
- Całe wyposażenie powinno być odpowiednio konserwowane, zgodnie z instrukcjami producenta.

Utylizacja

- Odczynnik **DNA EB** zawiera azydek sodu. Azydek sodu może wchodzić w reakcje z instalacjami wodno-kanalizacyjnymi wykonanymi z ołowiu lub miedzi, tworząc silnie wybuchowe azydki metali. Usuwając roztwory zawierające azydek sodu do zlewów laboratoryjnych, należy spłukać rury dużą ilością zimnej wody, aby zapobiec nagromadzeniu azydków.
- Należy zutylizować wszystkie nieużyte odczynniki, postępując zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.

Rozlanie płynów i czyszczenie

- Odczynniki **DNA PBB** i **WB I** zawierają chlorowodorek guanidyny. Jeśli płyn zawierający wspomniany bufor ulegnie rozlaniu, do czyszczenia należy używać odpowiedniego detergentu laboratoryjnego i wody. W przypadku rozlania płynu zawierającego potencjalne czynniki zakaźne do czyszczenia należy używać najpierw detergentu laboratoryjnego i wody, a następnie 0,5% roztworu podchlorynu sodu.

Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Uwaga: ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.

Pobieranie próbek i praca z próbkami

Zestaw cobas® cfDNA Sample Preparation Kit został opracowany do stosowania z próbkami osocza z dodatkiem środka przeciwzkrzepowego EDTA.

Osocze powinno zostać oddzielone od krwi pobranej zgodnie z rozdziałem **Pobieranie, transport i przechowywanie próbek** właściwej dla badania instrukcji użycia.

Transport, przechowywanie i stabilność próbek

Próbki osocza muszą być transportowane zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi, dotyczącymi transportu czynników etiologicznych.³

Zalecenia dotyczące przechowywania próbek są dostępne w rozdziale **Pobieranie, transport i przechowywanie próbek** właściwej dla badania instrukcji użycia.

Przechowywanie i stabilność próbki przetworzonej

Zalecenia dotyczące przechowywania próbek są dostępne w rozdziale **Pobieranie, transport i przechowywanie próbek** właściwej dla badania instrukcji użycia.

Wyizolowany cfDNA powinien być używany w zalecanych okresach przechowywania lub przed upływem daty ważności zestawu cobas® cfDNA Sample Preparation Kit użytego do izolacji DNA, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.

Przed użyciem izolowanych, przechowywanych roztworów podstawowych DNA, szybko wytrząsać i odwirować próbkę do elucji zawierającą roztwór podstawowy.

Procedura przygotowania próbek

Użycie zestawu

Rys. 1 Przebieg pracy z zestawem cobas® cfDNA Sample Preparation Kit

1	Wyjęcie próbek i odczynników z miejsca przechowywania.
2	Przygotowanie próbki do wiązania na kolumnie.
3	Przeprowadzenie izolacji DNA.
4	Elucja DNA.

Instrukcja użytkowania

Uwaga: zestaw cobas® cfDNA Sample Preparation Kit został opracowany do stosowania z próbkami osocza z dodatkiem środka przeciwzkrzepowego EDTA.

Przygotowanie i przechowywanie odczynników

Przed użyciem zestawu po raz pierwszy przygotować odczynniki robocze zgodnie z tabelą poniżej. Do dozowania wody użyć pipety serologicznej 5 ml. Do dozowania etanolu użyć pipet serologicznych 25 ml. Jeśli proteinaza K została już rozpuszczona i zamrożona, rozmrozić liczbę równych objętości odczynnika, wystarczającą do przetworzenia liczby próbek przeznaczonych do danego przebiegu testowego.

Odczynniki	Rozpuszczenie/Przygotowanie
Proteinaza K (PK)	Rozpuścić proteinazę PK przez dodanie do fiolki 4,5 ml jałowej wody za pomocą jałowej, jednorazowej pipety serologicznej o pojemności 5 ml. Wymieszać zawartość, odwracając fiolkę do góry dnem od 5 do 10 razy. Przenieść porcje po 1,1 ml rozpuszczonej PK do probówek do mikrowirówki o pojemności 1,5 ml i przechowywać w temperaturze –20°C przez maksymalnie 90 dni lub do daty ważności, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej. Jeśli PK została już rozpuszczona i zamrożona, rozmrozić liczbę równych objętości odczynnika, wystarczającą do przetworzenia liczby próbek przeznaczonych do danego przebiegu testowego (każda próbka wymaga 250 µl rozpuszczonego odczynnika PK).
Bufor płuczący I (WB I)	Przygotować roboczy odczynnik WB I dodając 15 ml alkoholu bezwodnego do butelki WB I . Wymieszać odwracając butelkę od 5 do 10 razy. Zapisać na butelce, że dodano etanol i wpisać datę. Przechowywać odczynnik WB I w temperaturze od 15°C do 30°C przez maksymalnie 90 dni lub do daty ważności, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
Bufor płuczący II (WB II)	Przygotować roboczy odczynnik WB II przez dodanie do butelki z odczynnikiem WB II 50 ml etanolu bezwodnego. Wymieszać zawartość, odwracając butelkę do góry dnem od 5 do 10 razy. Zapisać na butelce, że dodano etanol i wpisać datę. Przechowywać odczynnik WB II w temperaturze od 15°C do 30°C przez maksymalnie 90 dni lub do daty ważności, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.

Wszystkie roztwory przechowywane w temperaturze 15–30°C powinny być klarowne. Jeżeli w którymkolwiek odczynniku obecny jest osad, należy ogrzać roztwór do temperatury 37°C aż do rozpuszczenia się osadu. Nie wolno używać odczynnika do czasu rozpuszczenia się całego osadu.

Procedura izolacji DNA

- Opisać próbkę stożkową o pojemności 15 ml dla każdej próbki osocza i kontroli ujemnej. Jałowa woda może służyć jako kontrola ujemna i może być przetwarzana w taki sam sposób jak próbki.
- Zamieszać w mieszadło wibracyjnym, a następnie przenieść 2 ml każdej próbki osocza lub kontroli ujemnej (woda jałowa) do oddzielnej próbki o pojemności 15 ml.

Uwaga: do przetwarzania próbki za pomocą zestawu **cobas® cfDNA Sample Preparation Kit** potrzebne są przynajmniej 2 ml osocza.

- Dodać 250 µl **PK** do każdej próbki.
- Dodać 2 ml odczynnika **DNA PBB** do każdej próbki.
- Wymieszać próbki z próbką zawierającą odczynniki **DNA PBB/PK** odwracając je od 3 do 5 razy.
- Inkubować każdą próbkę w temperaturze pokojowej (od 15°C do 30°C) przez 30 minut.

Uwaga: podczas inkubacji przygotować wymaganą liczbę probówek filtrujących **HPEA FT** opisując każdą próbkę filtrującą **HPEA FT** odpowiednimi danymi na korku każdej próbki filtrującej **HPEA FT**.

Uwaga: na każdą próbkę będzie potrzebna jedna probówka filtrująca **FT HPEA**, trzy próbki zbiorcze (**CT**) i dwie próbki do elucji (próbki do mikrowirówki o pojemności 1,5 ml).

Uwaga: podczas inkubacji należy oznakować wymaganą liczbę probówek do elucji (probówek do mikrowirówki o pojemności 1,5 ml) informacjami identyfikującymi próbki.

- Dodać 500 µl izopropanolu i wymieszać lizat odwracając 3 do 5 razy.
- Przenieść całość lizatu do właściwie oznakowanej próbki filtrującej **HPEA FT**.
- Używając wirówki laboratoryjnej z rotorem wychylnym, odwirować próbkę filtrującą **HPEA FT** przy 4000 × g przez 5 minut.
- Po odwirowaniu wyjąć próbkę filtrującą **HPEA FT** ze stożkowej próbki zbiorczej o pojemności 50 ml. Umieścić próbkę filtrującą **HPEA FT** na próbce **CT**. Zdjąć większy zacisk blokujący odkręcając i odciągając go od zespołu.
- Zdjąć mniejszy zacisk blokujący spod korka próbki filtrującej (**FT**) popychając go do góry, aż uszczelka będzie pęknięta po obu stronach korkach, a następnie odciągając go od zespołu.
- Zdjąć próbkę filtrującą **HPEA** z próbki **FT** pochylając przedłużenie z dala od strony korka próbki **FT**.

13. Wyrzucić zawartość ze starej probówki filtrującej **HPEA FT** do odpadów chemicznych i w odpowiedni sposób usunąć zużytą jednostkę.
14. Opisać odpowiednio korek filtra.
15. Dodać 500 µl roboczego odczynnika **WB I** do każdej probówki **FT**.
Uwaga: przygotowanie roboczego odczynnika **WB I** opisano w tabeli w rozdziale **Przygotowanie odczynników**.
16. Do pozostałej części protokołu użyć mikrowirówki laboratoryjnej.
17. Odwirować jednostki **FT/CT** przy $8000 \times g$ przez 1 minutę.
18. Umieścić każdą probówkę **FT** na nowej probówce **CT**. Zutylizować zawartość z każdej probówki **CT** z odpadami chemicznymi i odpowiednio utylikować starą probówkę **CT**.
19. Dodać 500 µl roboczego odczynnika **WB II** do każdej probówki **FT**.
Uwaga: przygotowanie roboczego odczynnika **WB II** opisano w tabeli w rozdziale **Przygotowanie odczynników**.
20. Odwirować jednostki **FT/CT** przy $8000 \times g$ przez 1 minutę.
21. Umieścić każdą probówkę **FT** na nowej probówce **CT**. Zutylizować zawartość ze starej probówki **CT** z odpadami chemicznymi i w odpowiedni sposób usunąć zużytą probówkę **CT**.
22. Odwirować jednostki **FT/CT** przy $16\,000 \times g$ do $20\,000 \times g$ przez 1 minutę, aby osuszyć membranę filtra.
23. Umieścić probówkę **FT** na probówce do elucji (wolnej od RNazy/DNazy probówce do mikrowirówki o pojemności 1,5 ml) oznakowanej uprzednio informacjami identyfikującymi próbkę i na każdej probówce umieścić znak orientacyjny. Zutylizować zawartość z każdej probówki **CT** z odpadami chemicznymi i odpowiednio zutylikować starą probówkę **CT**.
24. Dodać 100 µl odczynnika **DNA EB** na środek membrany probówki **FT** bez dotykania membrany probówki **FT**.
25. Inkubować każdą probówkę do elucji **FT** w temperaturze pokojowej (od 15°C do 30°C) przez 5 minut.
26. Umieścić probówki w wirówce ze znakami orientacyjnymi skierowanymi na zewnątrz. Wirować probówkę **FT** z probówką do elucji z przyspieszeniem $8000 \times g$ przez 1 minutę, aby zebrać eluat do probówki do elucji (uprzednio oznakowanej wolnej od RNazy/DNazy probówki do mikrowirówki o pojemności 1,5 ml). Eluat stanowi roztwór podstawowy DNA.
27. Wyrzucić probówkę **FT**.
28. Powoli usunąć 80 µl roztworu podstawowego DNA zwracając uwagę, aby nie naruszyć peletki (która może nie być widoczna). Przenieść roztwór podstawowy DNA do drugiej probówki do elucji (wolnej od RNazy/DNazy probówki do mikrowirówki o pojemności 1,5 ml) oznakowanej uprzednio informacjami identyfikującymi próbkę. Zamknąć korki na probówkach do elucji. Roztwór podstawowy DNA jest gotowy do testów PCR. Przechowywać roztwór podstawowy DNA zgodnie z rozdziałem **Transport, przechowywanie i stabilność próbek** właściwej dla badania instrukcji użycia.

Uwaga: *pipetowanie ze spodu probówki do elucji może spowodować zniszczenie peletki i niekorzystnie wpłynąć na wyniki testu.*

Uwaga: *jeżeli peletka jest zniszczona, przenieść z powrotem roztwór podstawowy DNA do pierwotnej probówki do elucji, zamknąć probówkę, następnie szybko wytrząsać probówkę ze znakiem orientacyjnym skierowanym na zewnątrz, odwirować probówkę przy $8000 \times g$ przez 1 minutę, aby zebrać eluat i powtórzyć etap 28 w celu usunięcia 80 µl roztworu podstawowego DNA.*

Dodatkowe informacje

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 1 Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

Age/DOB Wiek lub data urodzenia	 Wyrób nieprzeznaczony do testów przy pacjencie	QS IU/PCR IU QS na reakcję PCR, użyć jednostek międzynarodowych (IU) QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
 Oprogramowanie pomocnicze	 Wyrób nieprzeznaczony do samodzielnego testowania	SN Numer seryjny
Assigned Range [copies/mL] Przypisany zakres (kopie/ml)	 Dystrybutor (Uwaga: pod symbolem może być wskazany właściwy kraj/region.)	Site Ośrodek
Assigned Range [IU/mL] Przypisany zakres (IU/ml)	 Nie używać powtórnie	Procedure Standard Procedura standardowa
EC REP Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	 Kobieta	STERILE EO Produkt sterylizowany tlenkiem etylenu
BARCODE Arkusz kodów kreskowych	 Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD	 Przechowywać z dala od światła
LOT Kod partii	GTIN Numer globalny jednostki handlowej	 Przestrzegać zakresu temperatury
 Zagrożenie biologiczne	 Importer	 Plik definicji testów
REF Numer katalogowy	IVD Wyrób do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Tą stroną do góry
 Oznaczenie zgodności CE – wyrób ten jest zgodny z obowiązującymi wymogami dotyczącymi oznaczenia CE dla wyrobu medycznego do diagnostyki <i>in vitro</i>	LLR Dolna granica przypisanego zakresu	Procedure UltraSensitive Procedura ultraczuła
Collect Date Data pobrania	 Mężczyzna	UDI Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu
 Sprawdź w instrukcji użytkowania	 Wytwórca	ULR Górna granica przypisanego zakresu
 Zawartość wystarczająca na <n> testów	CONTROL - Kontrola ujemna	Urine Fill Line Linia napełniania moczem
CONTENT Zawartość zestawu	 Wyrób niejadalny	Rx Only Tylko Stany Zjednoczone: prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zamówienie takiego lekarza.
CONTROL Próba kontrolna	 Nazwisko pacjenta	 Termin przydatności
 Data produkcji	 Numer pacjenta	
 Wyrób do testów przy pacjencie	 Rozerwać tutaj	
 Wyrób do samodzielnego testowania	CONTROL + Kontrola dodatnia	
	QS copies / PCR Kopie QS na reakcję PCR, użyć kopii QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.	

Pomoc techniczna

W celu uzyskania wsparcia (pomocy) technicznego należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Wytwórca i dystrybutor

Tabela 2 Wytwórca i dystrybutor



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany
www.roche.com

Made in USA

Distributed by Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-526-1247)¹

¹ Wyłącznie dla USA.

Znaki towarowe i patenty

Patrz <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Prawo autorskie

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Piśmiennictwo

1. Chosewood LC, Wilson DE. Biosafety and microbiological and biomedical laboratories-Fifth Edition. US Department of Health and Human Services Publication. (CDC). 2009;21-1112.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
3. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 60th Edition. 2019.

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev 6.0 12/2021	Zaktualizowano w celu zapewnienia zgodności z wymaganiami IVDR. Zaktualizowano stronę z ujednoliconymi symbolami. Dodano część Pomoc techniczna . Dodano deklarację „Made in”. Zaktualizowano adresy dystrybutorów. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Podsumowanie sprawozdania na temat bezpieczeństwa i parametrów działania można znaleźć pod następującym linkiem:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>