



MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit

 **Wersja 06**

Wersja treści: Sierpień 2021 r.

Wstępnie napełnione odczynniki przeznaczone do użytku z aparatem MagNA Pure 24 (nr kat. 07 290 519 001) do izolowania genomowego DNA oraz wirusowych kwasów nukleinowych z objętości do 1000 µl krwi pełnej, osocza lub surowicy, do 5 mg tkanek świeżo mrożonych, z do 6 mm³ tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie, lub z do 1 × 10⁶ komórek z hodowli komórkowych oraz izolowania kwasów nukleinowych bakterii, grzybów i wirusów z próbek pochodzenia ludzkiego o objętości do 1000 µl lub ludzkich wolno krążących kwasów nukleinowych z próbek osocza o objętości do 4000 µl.

REF 07 658 036 001

Zestaw na maks. 96 izolacji (200 µl)



Przechowywać w temperaturze od +15 do +25°C

-  Chronić zestaw przed światłem.
-  Chronić zestaw przed magnesami.

Spis treści

1.	PRZEZNACZENIE	3
2.	PODSUMOWANIE I WYJAŚNIENIE ZESTAWU	3
3.	ZASADA PROCEDURY	4
4.	ODCZYNNIKI	5
4.1	Liczba izolacji	5
4.2	Materiały dostarczone	5
5.	WYMAGANIA DOTYCZĄCE ŚRODKÓW OSTROŻNOŚCI I UŻYTKOWANIA	7
5.1	Ostrzeżenia i środki ostrożności	7
5.2	Użytkowanie odczynników	7
5.3	Dobra praktyka laboratoryjna	8
5.4	Postępowanie z odpadami	8
6.	PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ	9
6.1	Zestaw i odczynniki	9
6.2	Pobieranie próbek i przechowywanie materiału próbki	10
6.3	Przechowywanie oczyszczonych kwasów nukleinowych i eluatów	10
7.	MATERIAŁY	11
7.1	Wymagane, lecz niedostarczane materiały i urządzenia	11
7.2	Materiały opcjonalne	12
8.	PROCEDURY	13
8.1	Protokoły oczyszczania	13
8.2	Materiały próbek i procedury obróbki wstępnej	17
8.3	Procedura izolowania	27
8.4	Kończenie przebiegu	28
8.5	Kontrola jakości	29
9.	OGRANICZENIA I INTERFERENCJE	30
10.	INFORMACJE UZUPEŁNIAJĄCE	31
10.1	Symbole	31
10.2	Zmiany w stosunku do poprzedniej wersji	31
11.	ZNAKI TOWAROWE	32
12.	OŚWIADCZENIE REGULACYJNE	32
13.	PIŚMIENICTWO	32

1. PRZEZNACZENIE

System MagNA Pure 24 System jest automatycznym systemem oczyszczania kwasów nukleinowych, składającym się z aparatu MagNA Pure 24, oprogramowania, pojemników i odczynników. System MagNA Pure 24 System jest przeznaczony dla profesjonalnych użytkowników i służy do oczyszczania kwasów nukleinowych z próbek biologicznych na potrzeby diagnostyki *in vitro*.

Zestaw MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit jest przeznaczony do stosowania z systemem MagNA Pure 24.

2. PODSUMOWANIE I WYJAŚNIENIE ZESTAWU

Zestaw MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit jest przeznaczony do izolowania kwasów nukleinowych (NA, Nucleic Acid) z różnych materiałów próbek oraz różnych objętości próbek zgodnie z informacjami przedstawionymi w poniższej tabeli.

Material docelowy	Material próbki
Genomowe DNA	▪ 200, 500 lub 1000 µl krwi pełnej ▪ do 1×10^6 komórek z hodowli komórkowych ▪ do 5 mg tkanek świeżo mrożonych ▪ do 6 mm³ tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPET)
Kwasy nukleinowe bakterii, grzybów lub wirusów	200, 500 lub 1000 µl osocza, surowicy, krwi pełnej, płuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL), wymazów z jamy nosowej/części nosowej gardła, kału i moczu.
Ludzkie wolno krążące kwasy nukleinowe	2000 lub 4000 µl osocza

Wyizolowane i oczyszczone kwasy nukleinowe spełniają normy jakości wymagane przy ilościowej analizie PCR/RT-PCR o wysokiej czułości oraz sekwencjonowania następnej generacji.

3. ZASADA PROCEDURY

W procedurze izolowania kwasu nukleinowego wykorzystuje się sprawdzoną technologię magnetycznych szklanych cząstek MagNA Pure (MGP, Magnetic Glass Particle).

Główne etapy tej procedury izolowania są następujące:

1. Materiał próbki jest lizowany, uwalniane są kwasy nukleinowe, a nukleazy są denaturowane.
2. Dzięki działaniu środowiska soli chaotropowych i wysokiej sile jonowej bufora lizująco-wiążącego, kwasy nukleinowe przywierają do powierzchni krzemionki dodatku z MGP.
3. MGP ze związanymi kwasami nukleinowymi są magnetycznie oddzielane od reszty zlizowanej próbki.
4. Uwolnione substancje, takie jak białka, szczątki komórek i inhibitory PCR, są usuwane przez kilkakrotne płukanie.
5. Oczyszczone kwasy nukleinowe są wymywane z MGP.

4. ODCZYNNIKI

Zestaw umożliwia przeprowadzenie do 96 izolacji w zależności od objętości przetwarzanej próbki.

4.1 Liczba izolacji

Liczba izolacji	Materiał próbki
3 × 32 izolacje	Mała objętość: Do 200 µl osocza, surowicy, krwi pełnej, popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL), wymazów z jamy nosowej/części nosowej gardła, kału, moczu, do 5 × 10 ⁵ komórek z hodowli komórkowej i do 5 mg tkanek świeżo mrożonych.
3 × 24 izolacje	Duża objętość: 500 lub 1000 µl osocza, surowicy, krwi pełnej, popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL), wymazów z jamy nosowej/części nosowej gardła, kału, moczu i do 1 × 10 ⁶ komórek z hodowli komórkowej. Do 6 mm ³ tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPET), co odpowiada 6 skrawkom FFPET o grubości 4 lub 5 µm.
3 × 24 izolacje	Bardzo duża objętość: 2000 lub 4000 µl osocza  Do przetwarzania próbek o bardzo dużej objętości wymagane są dodatkowe odczynniki.

4.2 Materiały dostarczone

Zestaw składa się z 3 kaset z odczynnikami (każda z 6 pojemnikami na odczynniki) i 12 próbek MGP. Wszystkie elementy zestawu są gotowe do użycia.

3 kasety z odczynnikami	Zawartość/funkcja	Skład
Pojemnik na odczynnik 1	▪ Bufor płuczący I ▪ Usuwanie zanieczyszczeń.	70 ml Chlorowodorek guanidyny, etanol, Tris-HCl
Pojemnik na odczynnik 2	▪ Proteinaza K ▪ Trawienie białek.	12 ml Proteinaza K, glicerol

Pojemnik na odczynnik 3	▪ Bufor lizujący ▪ Do lizowania komórek/ patogenów i wiązania kwasów nukleinowych.	30 ml Tiocyjanian guanidyny, poli- dokanol, Tris-HCl
Pojemnik na odczynnik 4	▪ Bufor płuczący II ▪ Usuwanie zanieczysz- czeń.	34 ml Etanol, octan sodu
Pojemnik na odczynnik 5	▪ Bufor do elucji ▪ Elucja kwasów nukle- inowych.	15 ml Tris-HCl
Pojemnik na odczynnik 6	▪ Bufor płuczący III ▪ Usuwanie zanieczysz- czeń.	60 ml Octan sodu
12 probówek MGP	▪ Magnetyczne szklane cząstki ▪ Wiązanie kwasów nukleinowych.	1,8 ml Magnetyczne szklane cząstki, izopropanol

⚠ Nie wyjmować poszczególnych pojemników na odczynniki z kaset na odczynniki. Informacje na temat symboli i ostrzeżeń dotyczących bezpieczeństwa opisano w odpowiedniej karcie charakterystyki bezpieczeństwa (SDS).



Rys. 1: Przykładowa ilustracja produktu – Kaseta na odczynniki z pojemnikami na odczynniki 1 do 6.

5. WYMAGANIA DOTYCZĄCE ŚRODKÓW OSTROŻNOŚCI I UŻYTKOWANIA

5.1 Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Ze wszystkimi materiałami pochodzenia ludzkiego oraz wszystkimi uzyskiwanymi odpadami należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4^{1) 2)}.
- Procedury opisane w niniejszej instrukcji stosowania powinien wykonywać wyłącznie personel biegły w pracy z materiałami zakaźnymi oraz w używaniu systemu MagNA Pure 24.
- Ze względu na to, że patogeny w próbkach mogą mieć różną czułość i miano, operator musi optymalnie inaktywować patogeny i stosować odpowiednie środki ostrożności, przewidziane w lokalnych przepisach bezpieczeństwa.
- Należy ściśle przestrzegać podanych procedur i wytycznych, aby zagwarantować prawidłowe izolowanie i oczyszczanie kwasów nukleinowych. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność oczyszczania.
- Należy używać wyłącznie odczynników zawartych w tym zestawie oraz buforów zalecanych w instrukcji stosowania. Zastąpienie odczynników może spowodować wprowadzenie rybonukleaz.
- W celu zagwarantowania optymalnej wydajności w zakresie izolowania i oczyszczania kwasów nukleinowych należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały eksploatacyjne.

5.2 Użytkowanie odczynników

- Kilka buforów zawartych w zestawie MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit zawiera niebezpieczne substancje. Nie wolno dopuścić do kontaktu odczynników ze skórą, oczami lub błonami śluzowymi. W razie kontaktu skażone miejsca natychmiast przepłukać dużą ilością wody. W razie rozlania odczynników najpierw należy je rozcieńczyć wodą, a następnie wytrzeć.
- Nie pozwól, by odczynniki zawierające tiocyjanek guanidyny weszły w kontakt z podchlorynem sodu (bufor lizujący) lub z jakimkolwiek kwasem. Mieszanie te mogą wytwarzać silnie toksyczny gaz. Pamiętajcie o tym środku ostrożności jest szczególnie ważne podczas czyszczenia adaptera stacji procesowej, wkładki ścięgowej, pojemnika na zużyte końcówki i statywu na końcówki do odczynników. Dalsze informacje dotyczące czynności czyszczenia i konserwacji są dostępne w Asystencie Użytkownika systemu MagNA Pure 24.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasotę z odczynnikami, aby upewnić się, że nie ma żadnych oznak wycieków. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do izolowania i oczyszczania kwasów nukleinowych.
- Unikaj skażenia mikrobiologicznego i nukleazowego odczynników po ich otwarciu.
- Natychmiast po użyciu należy zamknąć wszystkie butelki z odczynnikami odpowiednimi zakrętkami, aby móc wykorzystać je później w tym samym aparacie, a następnie umieścić je w magazynie zgodnie z instrukcją użycia.

5.3 Dobra praktyka laboratoryjna

- Stosować jednorazowe rękawiczki ochronne, fartuchy laboratoryjne i ochronę oczu podczas pracy z próbkami i odczynnikami. W celu uniknięcia kontaminacji należy zmieniać rękawiczki pomiędzy obchodzeniem się z próbkami i odczynnikami.
- Jeżeli w trakcie obchodzenia się z próbkami i ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli zanieczyszczenia między próbkami, może dojść do wystąpienia fałszywie dodatnich wyników.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarach roboczych laboratorium.
- Nie wolno pipetować przez usta.
- Należy dokładnie umyć ręce po zakończeniu pracy z próbkami i odczynnikami, a także po zdjęciu rękawic.

Odczynniki i pojemniki reakcyjne skażone rybonukleazami spowodują rozkład matrycowego RNA. Dla zminimalizowania ryzyka zanieczyszczenia należy stosować poniższe wytyczne:

- Nie dotykać powierzchni lub materiałów, które mogą spowodować przeniesienie rybonukleaz.
- Końcówki pipet wyrzucać do hermetycznych pojemników, aby uniknąć skażenia drogą powietrzną.
- Obszary robocze i przyrządy (w tym pipety) należy myć, dezynfekować i dekontaminować dostępnymi w handlu odpowiednimi odczynnikami.
- Używać obszaru roboczego specjalnie przeznaczonego do prac związanych z RNA. W miarę możliwości stosować pojemniki reakcyjne i pipetory przeznaczone tylko do prac z matrycowym RNA.
- Jeżeli doszło do wycieku w obrębie aparatu, należy wykonać instrukcje dotyczące czyszczenia zawarte w Asystencie Użytkownika systemu MagNA Pure 24.

5.4 Postępowanie z odpadami

- Karty charakterystyki bezpieczeństwa (SDS, Safety Data Sheet) są dostępne w Internecie, na stronie www.dialog.roche.com lub na żądanie, w lokalnym biurze firmy Roche.
- Wszystkie materiały, które przypadkowo weszły w kontakt z próbkami i odczynnikami, należy usuwać zgodnie z przepisami krajowymi, stanowymi i lokalnymi.
- Podczas usuwania próbek i odczynników zestawu należy stosować jednorazowe rękawiczki ochronne, fartuchy laboratoryjne i ochronę oczu.
- Odczynniki usuwać z pojemników zgodnie z poniższą procedurą:
 1. Przebij folię w rogu jednego pojemnika na odczynniki w kasecie na odczynniki, używając sztywnego, plastikowego materiału zużywalnego, takiego jak pipeta serologiczna.
 2. Odchyl folię i przelej płyn do wyznaczonego pojemnika na odpady.
 3. Powtarzaj czynności z punktów 1 i 2 aż do opróżnienia wszystkich pojemników.

6. PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

6.1 Zestaw i odczynniki

- Zestaw jest wysyłany w temperaturze pokojowej.
- Zestaw należy chronić przed światłem i trzymać z dala od magnesów.

Kasety z odczynnikami

- Nieotwarta kaseeta na odczynniki przechowywana w temperaturze od +15 do +25°C zachowuje stabilność do daty ważności nadrukowanej na etykiecie.
- Stabilność na pokładzie aparatu: kasety na odczynniki można używać przez okres do 12 godzin w temperaturze od +15 do +25°C na pokładzie aparatu po pierwszym przebiegu.
- Jedną kasety na odczynniki można używać przy maksymalnie 6 indywidualnych przebiegach w tym samym aparacie w ciągu 28 dni. W celu przechowywania należy zamknąć kasety na odczynniki folią uszczelniającą MagNA Pure Sealing Foil. Ponownie zamknięte kasety na odczynniki należy przechowywać w pozycji pionowej w temperaturze od +2 do +8°C. Przed dalszym użyciem kasety na odczynniki należy umieścić na 60 minut w temperaturze od +15 do +25°C.
- ⚠ Częściowo wykorzystane kasety na odczynniki można ponownie wykorzystywać tylko w tym samym aparacie. Oprogramowanie każdego aparatu prowadzi inwentaryzację materiałów przy użyciu kodów kreskowych odczynników i rozpoznaje częściowo zużyte kasety na odczynniki, odpowiednio je obsługując w następnym przebiegu.
- ⚠ Jeżeli kasety na odczynniki nie zostaną prawidłowo zamknięte lub będą magazynowane dłużej niż 28 dni, parowanie może negatywnie wpływać na wydajność procesu izolowania i oczyszczania.
- ⚠ Przy magazynowaniu lub przenoszeniu wcześniej otwartych kasety na odczynniki należy uważać, aby ich nie przechylić, co mogłoby spowodować wyciek ich zawartości.

Probówki MGP

- Probówki MGP przechowywane w temperaturze od +15 do +25°C zachowują stabilność do daty ważności nadrukowanej na etykiecie. Probówki MGP służą tylko do **jednorazowego użytku**.
- Po dokładnym wymieszaniu zawartości probówki MGP można przechowywać otwarte na pokładzie aparatu przez okres do 1 godziny przed rozpoczęciem przebiegu.

6.2 Pobieranie próbek i przechowywanie materiału próbki

Aby zapewnić czułe wykrywanie kwasów nukleinowych, ważne jest dopilnowanie prawidłowego przechowywania próbek. Podwyższona temperatura ma wpływ na stabilność próbek. Rozmrażać zamrożone próbki przy lekkim mieszanii, np. przy użyciu laboratoryjnej wstrząsarki rolkowej.

- ⚠ Konieczne jest zwalidowanie warunków przechowywania (t_j , temperatura, czas) konkretnego materiału próbki w odniesieniu do indywidualnych parametrów IVD.
- ⚠ Materiału próbki nie przechowywać w zamkniętych kartridżach procesowych.
- ⚠ Nie używać osocza ani krwi z heparyną, gdyż może to negatywnie wpłynąć na efektywność dalszych procedur.

6.3 Przechowywanie oczyszczonych kwasów nukleinowych i eluatów

Aby uzyskać optymalne wyniki pomiarów, należy natychmiast przejść do wykonywania dalszych procedur.

- ⚠ Nie przechowywać eluatów na pokładzie aparatu.
- ⚠ Konieczne jest zwalidowanie warunków przechowywania (t_j , temperatura, czas) eluatów w odniesieniu do indywidualnych parametrów IVD.
- ⚠ W przypadku przechowywania eluatów w paskach 8 próbek należy uważać przy wyjmowaniu pasków 8 wieczek, aby uniknąć kontaminacji krzyżowej. Z tego samego powodu, jeżeli konieczne jest ponowne zamknięcie pasków 8 próbek, należy zawsze użyć nowego paska 8 wieczek.

Jeżeli eluaty przechowywano zamrożone, należy je delikatnie wymieszać po rozmrożeniu, pipetując w górę i w dół dziesięć razy przed wykonaniem jakichkolwiek dalszych kroków, np. PCR/RT-PCR lub pomiarów OD. Objętość mieszania powinna wynosić co najmniej połowę objętości eluatu. Jeżeli kwasy nukleinowe nie zostaną wstępnie wymieszane i równomiernie/jednorodnie rozprowadzone w roztworze, wyniki w dalszych zastosowaniach mogą nie być powtarzalne.

7. MATERIAŁY

7.1 Wymagane, lecz niedostarczane materiały i urządzenia

Material	Deskryptor	Numer katalogowy
MagNA Pure 24 Instrument	aparat	07 290 519 001
MagNA Pure 24 Processing Cartridge	kartridż procesowy	07 345 577 001
MagNA Pure 24 Processing Tip Park / Piercing Tool	statywy na końcówki procesowe / przebijak	07 345 585 001
MagNA Pure 24 Piercing Tool	przebijak	07 534 205 001
MagNA Pure Tip 1,000 µL	kończówka pipety 1000 µl	06 241 620 001
MagNA Pure Tip Waste Tray	taca na zużyte końcówki	08 185 492 001
MagNA Pure Tube 2.0 mL	probówka 2,0 ml	07 857 551 001
MagNA Pure Sealing Foil	folia uszczelniająca	06 241 638 001
FrameStrip® with flat caps-Low Profile	pasek 8 probówek (niskie) pasek 8 wieczek	07 345 593 001
FrameStrip® with flat caps-High Profile	pasek 8 probówek (wysokie) pasek 8 wieczek	07 652 275 001

- Standardowy sprzęt laboratoryjny: Pipety i wolne od nukleaz końcówki pipet blokujące powstawanie aerozoli.

7.2 Materiały opcjonalne

Material	Przeznaczenie	Numer katalogowy
Zestaw MagNA Pure 24 MGP Set	Dla dodatkowych izolacji kwasów nukleinowych z próbek o małej, dużej i bardzo dużej objętości.	07 806 361 001
Zestaw buforów MagNA Pure cfNA Buffer Set	Do izolowania wolno krążących kwasów nukleinowych z próbek osocza.	07 794 398 001
Zewnętrzny bufor lizujący bakterie MagNA Pure External Lysis Buffer	Do protokołów zewnętrznej lizy.	06 374 913 001
Bufor lizujący bakterie MagNA Pure Bacterial Lysis Buffer	Do izolowania kwasów nukleinowych bakterii, grzybów i wirusów.	06 374 921 001
Bufor lizujący tkanki MagNA Pure DNA Tissue Lysis Buffer	Do izolowania kwasów nukleinowych z próbek świeżo mrożonych.	06 640 702 001
Zestaw buforów MagNA Pure FFPET Buffer Set	Do odparafinowania i lizy tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie.	08 447 144 001
Proteinaza K, klasa PCR, aktywność (+37°C) $\geq 0,6$ U/ μ l	Do rozkładu białek	03 115 828 001 03 115 844 001
Bufor S.T.A.R. (Stool Transport and Recovery Buffer, do transportu i odzyskiwania)	Do stabilizacji, transportu i odzyskiwania kwasów nukleinowych w próbkach kału.	03 335 208 001
Aparat MagNA Lyser	Do homogenizowania tkanek.	03 358 968 001 dla nr ser. 40467540 03 358 976 001 dla nr ser. 40405218
Kulki MagNA Lyser Green Beads	Do homogenizowania tkanek.	03 358 941 001

- Roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanami (PBS, Phosphate Buffered Saline) do rozcieńczania materiału próbki oraz czynności wstępnych dotyczących próbki.

8. PROCEDURY

8.1 Protokoły oczyszczania

Kwasy nukleinowe można izolować przy użyciu różnych protokołów zoptymalizowanych pod kątem danego materiału próbek.

Wybrany protokół można wykonywać wyłącznie z określonymi materiałami próbek. Izolowanie kwasów nukleinowych z próbek innego typu może skutkować niewystarczającą wydajnością. Niewłaściwe użycie może prowadzić do aglutynacji i utraty MGP, krzyżowego skażenia próbek, a nawet uszkodzenia aparatu. Różne materiały próbek można łączyć w tym samym przebiegu wyłącznie, jeżeli tak podano w instrukcji. Należy zawsze przestrzegać zalecanych procedur obróbki wstępnej.

Nazwa protokołu	Element docelowy	Materiał próbki ¹⁾	Objętość elucji [μl] ²⁾
Protokoły dla próbek o małej objętości			
Pathogen 200 ³⁾	Kwasy nukleinowe bakterii, grzybów i wirusów	200 μl osocza, surowicy, krwi pełnej, popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL), wymazów z jamy nosowej/części nosowej gardła, kału i moczu. Jeżeli objętość próbki jest mniejsza niż 200 μl, rozcieńczyć przy użyciu roztworu PBS.	50, 100.
Fast Pathogen 200 ^{3), 5)}	Kwasy nukleinowe bakterii, grzybów i wirusów	200 μl osocza, surowicy, krwi pełnej, popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL), wymazów z jamy nosowej/części nosowej gardła, kału i moczu. Jeżeli objętość próbki jest mniejsza niż 200 μl, rozcieńczyć przy użyciu roztworu PBS.	50, 100.

Nazwa protokołu	Element docelowy	Materiał próbki ¹⁾	Objętość elucji [μl] ²⁾
External Lysis Pathogen 200	Kwasy nukleinowe bakterii, grzybów i wirusów	450 μl lizatu z 200 μl krwi pełnej, surowicy, osocza. Jeżeli objętość próbki jest mniejsza niż 200 μl, rozcieńczyć przy użyciu roztworu PBS.	50, 100.
hgDNA 200	Genomowe DNA	200 μl krwi pełnej (2×10^6 krwinek białych), do 5×10^5 komórek z hodowli komórkowych, do 5 mg tkanek świeżo mrożonych. Jeżeli objętość próbki jest mniejsza niż 200 μl, rozcieńczyć przy użyciu roztworu PBS.	50, 100.
hgDNA ds 200	Genomowe DNA	200 μl krwi pełnej (2×10^6 krwinek białych), do 5×10^5 komórek z hodowli komórkowych. Jeżeli objętość próbki jest mniejsza niż 200 μl, rozcieńczyć przy użyciu roztworu PBS.	50, 100. Ⓢ Rozwiązanie zalecane, jeżeli wymagane jest uzyskanie dwuniciowego DNA.
Fast hgDNA 200 ⁵⁾	Genomowe DNA	200 μl krwi pełnej (2×10^6 krwinek białych), do 5×10^5 komórek z hodowli komórkowych. Jeżeli objętość próbki jest mniejsza niż 200 μl, rozcieńczyć przy użyciu roztworu PBS.	50, 100.

Nazwa protokołu	Element docelowy	Materiał próbki ¹⁾	Objętość elucji [μl] ²⁾
Protokół dla próbek wycinków FFPET			
DNA FFPET 1000	Genomowe DNA	Do 6 skrawków FFPET (o grubości każdy 4 lub 5 μm)	50, 100.
Protokoły dla próbek o dużej objętości			
Pathogen 1000 ³⁾	Kwasy nukleinowe bakterii, grzybów i wirusów	500 lub 1000 μl osocza, surowicy, krwi pełnej, popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL), wymazów z jamy nosowej/części nosowej gardła, kału i moczu.	50, 100.
External Lysis Pathogen 500	Kwasy nukleinowe bakterii, grzybów i wirusów	1 450 μl lizatu z 500 μl krwi pełnej, surowicy, osocza. Jeżeli objętość próbki jest mniejsza niż 500 μl, rozcieńczyć przy użyciu roztworu PBS.	50, 100.
hgDNA 1000	Genomowe DNA	500 μl krwi pełnej (5×10^6 krwinek białych) lub 1000 μl krwi pełnej (1×10^7 krwinek białych), do 1×10^6 komórek z hodowli komórkowych.	100, 200.  Aby uzyskać wysoką wydajność lub w przypadku stosowania komórek z hodowli komórkowych o wysokiej zawartości DNA, wykonać elucję w 200 μl.

Nazwa protokołu	Element docelowy	Materiał próbki ¹⁾	Objętość elucji [μl] ²⁾
Protokoły dla próbek o bardzo dużej objętości			
cfNA ss 2000	Wolno krążące kwasy nukleinowe, głównie jednociowe DNA.	2000 μl osocza ⁴⁾	50, 100.
cfNA ss 4000	Wolno krążące kwasy nukleinowe, głównie jednociowe DNA.	4000 μl osocza ⁴⁾	50, 100.
cfNA ds 2000	Wolno krążące kwasy nukleinowe, głównie dwuniciowe DNA.	2000 μl osocza ⁴⁾	100, 150, 200 Do elucji głównie dwuniciowego DNA.
cfNA ds 4000	Wolno krążące kwasy nukleinowe, głównie dwuniciowe DNA.	4000 μl osocza ⁴⁾	100, 150, 200 ③ Do elucji głównie dwuniciowego DNA.
cfNA ds 4000 hp	Wolno krążące kwasy nukleinowe, głównie dwuniciowe DNA.	4000 μl osocza ⁴⁾	60, 150. ③ Do elucji głównie dwuniciowego DNA. Rozwiązanie zalecane w sytuacji, gdy wymagana jest wyższa wydajność, np. w odniesieniu do użytku i/lub czystości.

- ¹⁾Objętość próbki/lizatu pipetowana ręcznie do kartridży procesowych musi dokładnie odpowiadać objętości próbki określonej w globalnych ustawieniach przebiegów.
 - ²⁾Stężenie kwasu nukleinowego w eluacie, a tym samym czułość w dalszych procedurach, można zwiększyć, wybierając małą objętość eluatu. Tym niemniej efektywność elucji i łączna ilość uzyskanego kwasu nukleinowego mogą być niższe niż w wypadku użycia większej objętości elucyjnej.
 - ³⁾Protokoły dla patogenów służą do izolowania bakteryjnych, grzybiczych i wirusowych kwasów nukleinowych z różnych typów próbek pochodzenia ludzkiego. Te protokoły można stosować bezpośrednio z wskazanymi objętościami próbek lub wskazane objętości mogą składać się z lizatu.
 - ⁴⁾Osocze z próbek do pobierania krwi Roche Cell-free DNA, K2-EDTA lub Streck Cell Free DNA BCT. Wstępna obróbka za pomocą zestawu buforów MagNA Pure cfNA Buffer Set jest obowiązkowa.
 - ⁵⁾Szybkie protokoły (Fast) są przeznaczone do izolowania kwasów nukleinowych tylko z 8 próbek.
-  Do celów usuwania usterek dostępny jest protokół Instrument Check. Więcej informacji na ten temat można uzyskać u przedstawiciela firmy Roche.

8.2 Materiały próbek i procedury obróbki wstępnej

W celu uzyskania optymalnych wyników w dalszych zastosowaniach, zwłaszcza gdy chodzi o testy RT-PCR realizowane w czasie rzeczywistym, na przykład przy użyciu aparatów LightCycler®, nie wolno przetwarzać próbek o objętości większej niż przewidziana dla wybranego protokołu oczyszczania. Użycie za dużych próbek może negatywnie wpłynąć na efektywność procesu izolowania i oczyszczania oraz może prowadzić do aglutynacji i utraty MGP, kontaminacji krzyżowej próbek, a nawet uszkodzenia aparatu.

I. Krew pełna

Można używać świeżej lub mrożonej krwi pełnej, bez przygotowania wstępnego. Dopilnować całkowitej homogenizacji materiału próbki.

-  Jeżeli liczba krwinek białych przekracza 1×10^7 komórek/ml, krew pełną należy przed użyciem rozcieńczyć PBS, aby uniknąć aglutynacji MGP.
-  Upewnić się, że w próbkach krwi pełnej pobranych na antykoagulant nie ma skrzepów.

II. Osocze lub surowica

Można używać świeżego lub mrożonego osocza bądź surowicy bez przygotowania wstępnego, z wyjątkiem protokołów cfNA.

-  W razie utworzenia się osadów należy wykonać krótki krok odwirowywania przez 5 do 10 minut z siłą 1900 g. Ten krok odwirowania jest zalecany w przypadku protokołów cfNA. Jako próbki użyć tylko supernatantu.

III. Lizaty do protokołów zewnętrznej lizy

Krew pełna, osocze lub surowica wymieszana z zewnętrznym odczynnikiem lizującym MagNA Pure External Lysis Buffer.

-  Przed użyciem upewnić się, że bufor do lizy/wiązania ma temperaturę w przedziale od +15 do +25°C.

Dodać 200 lub 500 µl krwi pełnej, osocza lub surowicy do 250 lub 950 µl buforu MagNA Pure External Lysis Buffer.

Protokół	External Lysis Pathogen 200	External Lysis Pathogen 500
Próbka [μl]	200	500
Bufor do lizy/ wiązania [μl]	250	950
Łączna objętość lizatu [μl]	450	1 450

Przenieść całkowitą objętość lizatu do kartridża procesowego.

IV. Różne materiały próbek i lizaty do protokołów dla patogenów

Można przeprowadzić lizę patogenów w wielu różnych typach próbek pochodzenia ludzkiego.

Poniższe materiały próbek mogą być odpowiednie dla protokołów Pathogen 200, Fast Pathogen 200 i Pathogen 1,000:

mocz, popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe (BAL), wymazy, kał, krew pełna, osocze, surowica i hodowle bakteryjne.

- ⚠ Ze względu na dużą różnorodność materiałów próbek nie jest możliwe opracowanie jednej, uniwersalnej procedury. Przygotowanie wstępne półpłynnej próbki (BAL, kał itp.) do izolacji kwasów nukleinowych zależy od typu materiału próbki, lepkości próbki oraz typu i zawartości cząstek.
- ⚠ Należy przeprowadzić walidację wszystkich materiałów próbek stosowanych razem z tą procedurą przygotowania próbek oraz wszelkimi dalszymi etapami testów kwasów nukleinowych IVD w odniesieniu do indywidualnych parametrów IVD.
- ⚠ Nie stosować objętości wejściowej próbki 1000 μl w przypadku próbek o bardzo wysokiej lepkości i wysokiej zawartości komórek, jak kał.
- 🔍 W zależności od lepkości próbki oraz typu i zawartości cząstek próbki mogą być wykorzystywane bez czynności wstępnych.

Protokół lizowania z użyciem bufora do lizowania bakterii MagNA Pure Bacterial Lysis Buffer (BLB)

- ① **Upłynnienie (opcjonalnie)**
 - 🔍 Upłynnienie jest zalecane w przypadku materiałów próbek o bardzo wysokiej lepkości i stanowi obowiązkowy krok przy izolowaniu kwasów nukleinowych z próbek BAL.
 - Przygotować świeży roztwór podstawowy DTT (ditiotreitolu) (*np.* 5× stęż. = 0,75%).
 - Końcowe stężenie DTT w próbce wyregulować na 0,15%, dodając roztwór podstawowy DTT.
 - Próbkę inkubować, wytrząsając ją w temperaturze +37°C, przez 30 minut, z prędkością 850 obr./min, aż da się łatwo pipetować.

- ② **Dodanie buforu do lizowania bakterii (BLB)**
Przenieść odpowiednią objętość próbki do świeżej probówki 1,5 ml.

Protokół	Pathogen 200	Pathogen 1000
Objętość próbki [μ l]	100	250
		500

- ③ Wstępnie zmieszać odpowiednie objętości BLB i proteiny K:

Protokół	Pathogen 200	Pathogen 1000
BLB [μ l]	100	250
Proteinaza K [μ l]	20	50
		100
Mieszanka BLB/PK [μl]	120	300
		600

- Dodać tę mieszaninę do 1,5 ml probówki zawierającej próbkę i dokładnie wymieszać, używając wytrząsarki typu wortex.
- Inkubować, wytrząsając w temperaturze $+65^{\circ}\text{C}$, przez 10 minut, z prędkością 450 obr./min.

- ④ **Inkubacja w temperaturze $+95^{\circ}\text{C}$ (w przypadku trudnych materiałów próbek)**

Aby inaktywować organizmy patogenne oraz poprawić lizę komórek w przypadku niektórych gatunków bakterii w trudnych materiałach próbek, jak próbki kału, próbkę należy inkubować w temperaturze $+95^{\circ}\text{C}$. Aby zapobiec wyciekowi, należy używać probówek z zakrętkami.

- Inkubować próbki przez 10 minut w temperaturze $+95^{\circ}\text{C}$.
- ④ W celu wyizolowania RNA należy pominąć krok inkubacji w temperaturze $+95^{\circ}\text{C}$, gdyż mogłoby to negatywnie wpłynąć na integralność RNA.
- Próbkę schłodzić w lodzie. Krótko odwirować w celu zebrania pełnej objętości próbki na dnie probówki.

- ⑤ Przenieść wskazaną objętość lizatu do kartridża procesowego.

Protokół	Pathogen 200	Pathogen 1000
Lizat przenoszony pipetą do kartridża procesowego [μ l]	200	500
		1 000

Wstępne przygotowanie próbek kału

- ① Pobrać próbkę kału o wielkości ziarnka grochu i przygotować z niej zawiesinę w 550 µl PBS.
 - ⌚ Aby nie doszło do zatkania końcówek pipety cząstkami stałymi, odwirować przez 5 s z siłą 500 × g.
 - ⌚ W celu wyizolowania wirusowego RNA, do sporządzenia zawiesiny próbek kału można też użyć mieszaniny buforów PBS/STAR (stosunek 1:1). Może to pomóc ograniczyć ewentualną inhibicję podczas dalszych procedur.

- ② Przenieść odpowiednią objętość supernatantu do świeżej probówki 1,5 ml.

Protokół	Pathogen 200	Pathogen 1000
Supernatant [µl]	100	250

- ③ Wstępnie zmieszać odpowiednie objętości BLB i proteiny K:

Protokół	Pathogen 200	Pathogen 1000
BLB [µl]	100	250
Proteinaza K [µl]	20	50
Mieszanina BLB/PK [µl]	120	300

▪ Dodać tę mieszaninę do 1,5 ml probówki zawierającej próbkę i dokładnie wymieszać, używając wytrząsarki typu wortex.

- ④ Inkubować przez 10 minut w temperaturze +65°C, wytrząsając z prędkością 850 obr./min, a następnie przeprowadzić 10-minutową inkubację w temperaturze +95°C.
 - ⚠ W celu wyizolowania RNA należy pominąć krok inkubacji w temperaturze +95°C, gdyż mogłoby to negatywnie wpłynąć na integralność RNA.

- ⑤ Przenieść wskazaną objętość lizatu do kartridża procesowego.

Protokół	Pathogen 200	Pathogen 1000
Lizat przenoszony pipetą do kartridża procesowego [µl]	200	500

Wstępne przygotowanie próbek wymazów

- ① Sporządzić zawiesinę suchego wymazu w odpowiedniej objętości buforu BLB wstępnie wymieszanego z proteinazą K.

Protokół	Pathogen 200	Pathogen 1000
BLB [μ l]	200*	500* 1 000*
Proteinaza K [μ l]	20	50 100
Mieszanina BLB/PK [μl]	220	550 1 100

* W przypadku wymazów w podłożu transportowym należy użyć połowy objętości BLB, a drugą połowę ma stanowić próbka w podłożu transportowym. Objętość końcowa powinna pasować do objętości podanej w tabeli. Wstępnie wymieszać bufor BLB wyłącznie z całkowitą objętością proteinazy K i dodać tę mieszaninę do próbki w podłożu transportowym.

- ② Ścisnąć i wyjąć wymazówkę.
- ③ Dokładnie wymieszać przy pomocy wytrząsarki typu wortex. Inkubować płynną próbkę przez 10 minut w temperaturze $+65^{\circ}\text{C}$, wytrząsając z prędkością 450 obr./min, a następnie przeprowadzić 10-minutową inkubację w temperaturze $+95^{\circ}\text{C}$.
- ⚠ W celu wyizolowania RNA należy pominąć krok inkubacji w temperaturze $+95^{\circ}\text{C}$, gdyż mogłoby to negatywnie wpłynąć na integralność RNA.
- ④ Próbkę schłodzić w lodzie. Krótco odwirować w celu zebrania pełnej objętości próbki na dnie probówki.
- ⑤ Przenieść wskazaną objętość lizatu do kartridża procesowego.

Protokół	Pathogen 200	Pathogen 1000
Lizat przenoszony pipetą do kartridża procesowego [μ l]	200	500 lub 1000

V. Komórki z hodowli

Do izolowania kwasów nukleinowych z wykorzystaniem protokołów hgDNA 200 i hgDNA 1000 należy użyć komórek z hodowli komórkowej zawieszonych w roztworze PBS.

- ① W celu wyizolowania DNA z komórek hodowanych w zawiesinie, delikatnie odwirować je przez 5 minut z siłą $300 \times g$. W razie potrzeby osad komórek wypłukać za pomocą PBS.
- ② Osad komórek można magazynować w temperaturze -15 do -25°C przez kilka tygodni.

- ② Usunąć podłoże hodowlane (lub PBS) i ponownie utworzyć zawiesinę komórek w zimnym roztworze PBS, pipetując lub wstrząsając próbkę aż do utworzenia zawiesiny przez osad komórek.
- ③ Przenieść odpowiednią objętość zawiesiny do kartridża procesowego.
 - ⚠ W przypadku protokołu hgDNA 200 nie używać więcej niż 5×10^5 komórek/200 μ l. W przypadku protokołu hgDNA 1000 nie używać więcej niż 1×10^6 komórek. Odstępstwa od zaleceń mogą skutkować niewystarczającą wydajnością.

VI. Tkanka świeżo mrożona

Do izolowania kwasów nukleinowych z wykorzystaniem protokołu hgDNA 200 należy użyć do 5 mg homogenizowanej tkanki świeżo mrożonej.

Homogenizacja tkanki przez wytrawianie proteinazą K

- ① Dodać do 5 mg próbki tkanki do 1,5 ml próbówki.
- ② Dodać do próbki tkanki 180 μ l buforu MagNA Pure DNA Tissue Lysis Buffer i 20 μ l proteinazy K.
- ③ Inkubować w temperaturze +55°C, aż do całkowitego rozpuszczenia tkanki (zazwyczaj od 3 godzin do całej nocy).
 - 🕒 Taka metoda homogenizacji pozwala zapewnić dużą ilość i integralność DNA.
- ④ Przenieść odpowiednią objętość lizatu do kartridża procesowego.
- ⑤ Jeżeli nie jest konieczne natychmiastowe przeprowadzenie oczyszczania, lizat można przechowywać w temperaturze od -80 do -20°C.

Homogenizacja tkanki za pomocą aparatu MagNA Lyser

- ① Do próbówki MagNA Lyser Green Beads Tube przenieść do 5 mg tkanki.
- ② Dodać 200 μ l buforu MagNA Pure DNA Tissue Lysis Buffer.
- ③ Homogenizować tkankę przez 30 do 40 s w aparacie MagNA Lyser. W razie niepełnej homogenizacji należy powtórzyć ten krok. Więcej szczegółowych informacji jest dostępnych w podręczniku operatora aparatu MagNA Lyser.
 - 🕒 Jest to szybka metoda, lecz z powodu mechanicznego ścinania może nastąpić częściowa fragmentacja DNA.
- ④ Przenieść odpowiednią objętość lizatu do kartridża procesowego.

VII. Tkanka utrwalona w formalinie i zatopiona w parafinie

Użyć zestawu buforów MagNA Pure FFET Buffer Set do oczyszczenia kwasów nukleinowych z maksymalnie 6 skrawków FFET o grubości 4 lub 5 μm . Odpowiada to maksymalnie 6 mm^3 tkanki.

- ⚠ Nie stosować więcej niż określona ilość próbki FFET, gdyż w przeciwnym wypadku może mieć to negatywny wpływ na proces oczyszczania kwasów nukleinowych. Ilość i jakość wyizolowanych kwasów nukleinowych w dużym stopniu zależy od użytego typu tkanki, wieku próbki i protokołu utrwalania.
- ⚠ Nie wolno nigdy używać częściowo użytych butelek z odczynnikami z ręcznych procesów pracy w automatycznych procesach.

Przygotowanie próbki i odczynników do protokołu DNA FFET 1000

- ① Dla każdej izolacji dodać do 6 skrawków FFET o grubości 4 lub 5 μm ($\leq 6 \text{ mm}^3$ tkanki) na spód 2,0 ml próbówki.
 - ⚠ Przed pobraniem skrawków FFET usunąć nadmiar parafiny z bloczku FFET lub preparatu FFET.
 - ⚠ Aby zapewnić maksymalne odzyskiwanie kwasu nukleinowego, przed rozpoczęciem wirowania próbki FFET powinny znajdować się maksymalnie blisko spodu 2,0 ml próbówki.
- ② Odwirować 2,0 ml próbówkę przy 5000 g przez 30 sekund w temperaturze od $+15$ do $+25^\circ\text{C}$ aż do zebrania próbek na spodzie próbówek.
- ③ Załadować odwirowane próbówki na próbki do 2,0 ml adapterów już włożonych do statywu na próbki.
 - ⚠ Prawidłowo włożyć adaptery próbówki na próbki oraz 2,0 ml próbówki do statywu na próbki.Statyw na próbki włożyć do jego gniazda w aparacie i kontynuować tworzenie zlecenia.
- ④ Przygotować odczynnik odparafinowujący: Bezpośrednio przed użyciem przenieść 25 ml odczynnika do deparafinowania dostarczonego w zestawie buforów MagNA Pure FFET Buffer Set do jednej z pustych 25 ml butelek na odczynniki oznaczonej kodem kreskowym.

-
- ⑤ W stacjach aparatu podświetlonych na żółto w oprogramowaniu załadować wymagane zasoby:
Na koniec włożyć do statywu na odczynniki:
- odczynnik do deparafinowania w 25 ml butelce na odczynniki
 - butelki na odczynniki z buforem do lizowania
 - butelki na odczynniki z izopropanolem
 - próbki MGP po worteksowaniu
- ⚠ Do urządzenia należy wkładać tylko otwarte butelki na odczynniki i próbki MGP.
- ⚠ Unikać wprowadzania pęcherzyków/piany do odczynników zestawu buforów FFPET. W razie utworzenia pęcherzyków można je usunąć, nakłuwając końcówką pipety.
- ⚠ Można ponownie wykorzystywać częściowo wykorzystane butelki na odczynniki pochodzące wyłącznie z automatycznych procedur wykonywanych przy użyciu **tego samego** aparatu. Oprogramowanie każdego aparatu prowadzi inwentaryzację materiałów przy użyciu kodów kreskowych odczynników i rozpoznaje częściowo zużyte butelki na odczynniki, odpowiednio je obsługując w następnym przebiegu. Wszystkie butelki na odczynniki zachowują stabilność wewnątrz aparatu przez 16 godzin oraz przez 28 dni po pierwszym użyciu.
- Po pomyślnym zweryfikowaniu wszystkich zasobów rozpocząć przebieg.
-
- ⑥ Po zakończeniu przebiegu rozładować aparat zgodnie z opisem zawartym w Asystencie Użytkownika. Natychmiast po użyciu należy zamknąć wszystkie butelki z odczynnikami odpowiednimi zakrętkami, aby móc wykorzystać je później w tym samym aparacie, a następnie umieścić je w magazynie zgodnie z instrukcją użycia.
-
- ⚠ Czasami możliwe jest zaobserwowanie półprzezroczystych/kolorowych eluatów. Można je wykorzystywać w późniejszych procedurach.
- ⚠ Przy usuwaniu odpadów należy pamiętać, że 2,0 ml próbki na próbki zawierają odczynniki zestawu buforów FFPET.

VIII. Osocze na wolno krążące kwasy nukleinowe

Przy izolowaniu wolno krążących kwasów nukleinowych (cfNA) należy stosować zestaw buforów MagNA Pure cfNA Buffer Set.

- ④ Przed oczyszczeniem wolno krążących kwasów nukleinowych należy odwirować próbki przez 5 do 10 minut z siłą 1000 do 1900 *g*. Unikać przeniesienia osadu.

⚠ Unikać wprowadzania pęcherzyków/piany podczas wszystkich etapów pipetowania.

- ① Umieścić odpowiednią objętość proteiny K w świeżej probówce na próbkę przetestowanej do tego zastosowania (próbówka Sarstedt 55.466 i Sarstedt 55.495). Dodać próbkę do próbki z proteinazą K, delikatnie wymieszać i inkubować przez 20 minut w temperaturze +37°C.

Protokół	cfNA ss 2000 cfNA ds 2000	cfNA ss 4000 cfNA ds 4000
Proteinaza K [μl]	200	400
Objętość próbki [μl]	2 000	4 000

- ② W zależności od liczby przetwarzanych próbek przygotować większą ilość buforu cfNA: pipetować bufor wzmacniający wolno krążące kwasy nukleinowe (CELB, Cell-Free Nucleic Acid Enhancement Buffer) i dodać izopropanol (IPA) przy użyciu pojemnika w odpowiednim rozmiarze. Zamknąć i delikatnie wymieszać, odwracając. Roztwór zachowuje stabilność przez maksymalnie 2 godziny.

Protokół	cfNA ss 2000 cfNA ds 2000	cfNA ss 4000 cfNA ds 4000
CELB [μl]	1 750	3 500
IPA [μl]	300	600
Mieszanina buforów do cfNA (CELB + IPA) [μl]	2 050	4 100

-
- ③ Dodać do każdej próbki odpowiednią ilość mieszaniny buforów do cfNA.
Dodać 2000 µl mieszaniny buforów do cfNA do próbki o objętości 2000 µl lub 4000 µl mieszaniny buforów do cfNA do próbki o objętości 4000 µl. Dokładnie wymieszać aspirując i dozując płyn około 8 razy, aby uzyskać jednorodną mieszaninę.
- ⚠ Lizatu nie wolno przechowywać w magazynie.
- 🕒 Ewentualne pęcherzyki można usunąć, aspirując je do końcówki pipety trzymanej przy brzegu próbówki, tuż nad powierzchnią płynu. Pęcherzyki można również usunąć przez odwirowanie zamkniętych probówek przez 1 minutę przy 2000 x g.
-
- ④ Załadować próbówki do statywu na próbki. Załaduj statyw na próbki do aparatu.
-

8.3 Procedura izolowania

Aparat MagNA Pure 24 może równocześnie przetwarzać maksymalnie 24 próbki. Szczegółowy opis obsługi aparatu jest dostępny w Asystencie Użytkownika systemu MagNA Pure 24.

- ⚠ Użytkownik odpowiada za zwalidowanie działania systemu w odniesieniu do wszelkich procedur wykorzystywanych w laboratorium.
- ⚠ Przy mieszaniu zawartości próbek pierwotnych zawierających próbki należy unikać wprowadzenia piany/pęcherzyków przed ich załadowaniem do aparatu. Aby zagwarantować prawidłowe wykrywanie poziomu płynów, unikaj pozostawienia kropli na ściankach próbek na próbki.
- ⚠ Upewnić się, że wszystkie próbki na próbki są prawidłowo osadzone w obrębie statywu na próbki.
- ⚠ Wodny materiał próbki, jak kwasy nukleinowe rozpuszczone w wodzie lub w płynach bez bufora biologicznego, może być przyczyną niskiej wydajności oczyszczania. W przypadku wodnych materiałów próbek należy dodać 10× roztworu PBS, aby uzyskać stężenie końcowe 1× PBS.
- ⚠ Jeżeli kasety na odczynniki magazynowano w temperaturze niższej od +15°C, przed ich użyciem należy je pozostawić na co najmniej godzinę w temperaturze od +15 do +25°C.
- 🕒 W jednym przebiegu oczyszczania można użyć dwóch kaset na odczynniki z tej samej lub z różnych partii.
- ⚠ Przed włożeniem kasety na odczynniki do stacji ładowania odczynników aparatu, należy się upewnić, że wszystkie pojemniki są całkowicie wsunięte do kasety na odczynniki.
- ⚠ Przed włożeniem próbek MGP na pokład aparatu należy je worteksonować przez 60 sekund. Odkryte próbki MGP należy ostrożnie włożyć na pokład aparatu bezpośrednio przed rozpoczęciem przebiegu. W razie wylania zawartości, próbki MGP wymienić.
- ⚠ Wszystkie elementy ładowane do aparatu muszą być otwarte. Dotyczy to próbek zawierających próbki, próbek MGP, próbek kontroli wewnętrznej, butelek na odczynniki oraz wyjściowych elementów zużywalnych.
- ⚠ Aby uniknąć rozlania odczynników, należy zachować ostrożność podczas wkładania statywu na odczynniki do jego gniazda.
- 🕒 Dotyczy procedur z próbkami FFPET: Przeniesienie niewielkich ilości odczynnika odparafinowującego do próbki przetwarzania próbki wpływa na wydajność procesu oczyszczania. Pozostały bufor do lizowania również nie wpłynie na wyniki.

8.4 Kończenie przebiegu

Po zakończeniu przebiegu należy wyładować wyjściowe elementy zużywalne zawierające eluaty.

- Ⓢ Po zakończeniu przebiegu eluaty nie powinny pozostawać na pokładzie aparatu dłużej niż przez 2 godziny, gdyż w przeciwnym wypadku dojdzie do oznakowania odpowiadających wyników.
- Ⓢ Po otwarciu pokryw aparatu dojdzie do przerwania chłodzenia eluatów.
- Ⓢ Małe ilości cząstek magnetycznych w próbkach wyjściowych/paskach próbek nie mają wpływu na reakcję PCR i RT-PCR w aparatach Light-Cycler® lub konwencjonalnych termocyklerach. Jeżeli pożądane jest usunięcie MGP, przed usunięciem eluatu próbki wyjściowe/paski próbek należy umieścić na płycie magnetycznej.
- Nie wolno przekraczać limitu czasu na pokładzie aparatu kasety na odczynniki. Należy ostrożnie wyładować kasety, aby uniknąć rozlania jej zawartości. Zamknąć kasety z odczynnikami folią. W celu wykorzystania w przyszłości, częściowo wykorzystane kasety na odczynniki należy przechowywać w pozycji pionowej w temperaturze od +2 do +8°C.
- Wykonać zadanie rozładowywania zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi przez aparat.
- ⚠ Probówki MGP służą wyłącznie do jednorazowego użytku i trzeba je wyrzucić po każdym przebiegu, nawet jeżeli zostały tylko częściowo wykorzystane.
- Odpady ciekłe i stałe usuwać zgodnie z lokalnymi przepisami.
- Dokładnie sprawdzić aparat pod kątem oznak wycieków. Jeżeli doszło do wycieku, aparat należy wyczyścić w sposób opisany w Asystencie Użytkownika systemu MagNA Pure 24.
- Wszystkie akcesoria należy wyczyścić i poddać dekontaminacji w sposób opisany w Asystencie Użytkownika systemu MagNA Pure 24.
- ⚠ Nie pozwól, by odczynniki zawierające tiocyjanek guanidyny weszły w kontakt z podchlorynem sodu (bufor lizujący) lub z jakimkolwiek kwasem. Mieszaniny te mogą wytwarzać silnie toksyczny gaz. Dalsze informacje dotyczące czyszczenia i konserwacji są dostępne w Asystencie Użytkownika systemu MagNA Pure 24.

8.5 Kontrola jakości

⚠ Należy zawsze oznaczać odpowiednie kontrole.

Aby kontrolować cały proces, począwszy od przygotowania próbki po analizę, należy przeprowadzić oznaczenie poniższych kontroli:

- Kontrola dodatnia zawierająca materiał próbki dodatni pod kątem sekwencji docelowej.
- Kontrola ujemna zawierająca materiał próbki ujemny pod kątem sekwencji docelowej.
- Kontrola wewnętrzna (IC) uzyskana poprzez dodanie określonej ilości kontrolnej sekwencji docelowej do wszystkich oczyszczanych próbek. Kontrola IC jest dodawana przed etapem oczyszczania, zostaje współocyszczona a następnie jest, przykładowo, poddawana amplifikacji razem z daną sekwencją docelową w trakcie tej samej reakcji PCR. W przypadku zastosowań, które mogą być związane z uzyskiwaniem wyników fałszywie ujemnych, stosowanie odpowiedniej kontroli wewnętrznej jest obowiązkowe.

Materiały do kontroli wewnętrznej

Aparat może automatycznie dodawać kontrolę wewnętrzną (IC) podczas przebiegu oczyszczania do każdej próbki. Objętość kontroli wewnętrznej jest ustalona na 20 µl na próbkę. Dla jednego przebiegu można załadować maksymalnie 2 różne kontrole wewnętrzne. Tylko 1 kontrola wewnętrzna może zostać dodana do każdej próbki. Aby korzystać z tej funkcji, należy wybrać kontrolę wewnętrzną w globalnych ustawieniach przebiegów. Odpowiednia ilość kontroli wewnętrznej jest obliczana przez oprogramowanie i wyświetlana w ustawieniach przebiegu na ekranie *Overview*. Dodać wskazaną objętość kontroli wewnętrznej do 2 ml próbki oznaczonej kodem kreskowym i włożyć próbki do odpowiednich pozycji statywu na odczynniki.

- ⓘ Z powodu ograniczeń mechanicznych wymagana objętość kontroli wewnętrznej jest wyższa od iloczynu liczby próbek i 20 µl:
- ⚠ W przypadku protokołów cfNA (*tj.*, próbka początkowa o objętości 2000 µl i 4000 µl) kontrolę wewnętrzną należy dodać ręcznie do przygotowanego lizatu. Należy zwrócić uwagę, że funkcja kontroli wewnętrznej aparatu jest dostępna, lecz nie jest aktywna.
- ⚠ W przypadku protokołu FFPET aparat nie może dodawać kontroli wewnętrznej.

9. OGRANICZENIA I INTERFERENCJE

1. Zestaw MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit został oceniony wyłącznie w połączeniu z systemem MagNA Pure 24.
2. Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od prawidłowych procedur pobierania, transportu, przechowywania i wykorzystywania próbek.
3. Zestaw MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit został zwalidowany wyłącznie w odniesieniu do materiału próbki określonego w niniejszej instrukcji użycia. Oczyszczanie kwasów nukleinowych z próbek innego typu może skutkować niewystarczającą wydajnością.
4. Protokoły należy stosować wyłącznie z określonymi materiałami próbek. Odstępstwa od zaleceń mogą skutkować niewystarczającą wydajnością.
5. Stosowanie tego produktu powinno ograniczać się do personelu przeszkolonego w technikach izolowania kwasów nukleinowych. Należy przeprowadzić walidację wszystkich zastosowań IVD obejmujących procedurę przygotowania próbek oraz wszelkie dalsze etapy testów kwasów nukleinowych IVD w odniesieniu do indywidualnych parametrów IVD.
6. Aby zminimalizować ryzyko negatywnego wpływu na wyniki, konieczne jest stosowanie odpowiednich kontroli dalszych etapów procedury.
7. Konieczne jest zwalidowanie warunków przechowywania (temperatura, czas) próbek, lizatów, osadów komórek z hodowli komórkowych i eluatów w odniesieniu do indywidualnych parametrów IVD.
8. Użytkownik musi określić odpowiednią charakterystykę roboczą, w szczególności w połączeniu z wszelkimi dalszymi etapami procedury. Wszystkie wyniki trzeba interpretować w oparciu o wszystkie istotne dane kliniczne i laboratoryjne. Ponieważ stężenie analitu może się w dużym stopniu różnić pomiędzy różnymi typami próbek, przed przejściem do wykonywania rutynowych testów zaleca się określenie wydajności kontaminacji krzyżowej poprzez tzw. eksperymenty naprzemienne (próbki wysoce dodatnie obok próbek ujemnych).
9. Z uwagi na różnice między technologiami zaleca się, aby przed zmianą stosowanych metod użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji w celu określenia występujących między nimi różnic jakościowych. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.
10. Wpływ substancji interferujących oceniano przy serii rosnących stężeń poniższych często występujących substancji: hemoglobina ludzka, bilirubina i tłuszcze (ocena prowadzona przy użyciu protokołu Pathogen 200).

10. INFORMACJE UZUPEŁNIAJĄCE

10.1 Symbole

Symbole używane w tej publikacji i powiązane z tym produktem:

Symbol	Opis
	Ważna informacja
	Notatka informacyjna
IVD	Do stosowania w diagnostyce <i>in vitro</i> .
CE	Odczynnik spełnia wymagania stawiane przez Rozporządzenie IVDR (UE) 2017/746.
REF	Numer katalogowy
GTIN	Globalny Numer Handlowy
UDI	Unikalny identyfikator urządzenia
LOT	Numer serii
	Termin ważności
	Data produkcji
CONTENT	Zawartość zestawu
	Granica temperatury
	Należy zapoznać się z instrukcją użytkowania
D	Dystrybucja
	Producent
EC REP	Upoważniony przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
	Importer

10.2 Zmiany w stosunku do poprzedniej wersji

- Aktualizacja w celu spełnienia wymagań stawianych przez Rozporządzenie IVD (UE) 2017/746.
- Aktualizacja zestawów opcjonalnych.

11. ZNAKI TOWAROWE

MAGNA PURE, MAGNA LYSER i LIGHTCYCLER to znaki towarowe firmy Roche.

Wszystkie pozostałe nazwy lub znaki towarowe są odpowiednio własnością podmiotów je posiadających.

12. OŚWIADCZENIE REGULACYJNE

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

13. PIŚMIENNICTWO

¹⁾ Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.

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.



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
Manufactured in Germany



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116,
68305 Mannheim, Germany
+49 621 759 0



Distributed in USA by Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA
US Customer Technical Support: 1-800-526-1247

