

INSTRUKCJA TECHNICZNA

Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit

Instrukcja użytkowania produktu
AS1820

Przeostroga: Z kartridżami należy obchodzić się ostrożnie; krawędzie zamknięcia kartridża mogą być ostre.

Maxwell[®] CSC Whole Blood DNA Kit

Dokumentacja techniczna jest dostępna na stronie internetowej pod adresem: www.promega.com/protocols/
 Na tej stronie internetowej można sprawdzić, czy używana wersja niniejszej instrukcji technicznej jest aktualna. W razie pytań dotyczących obsługi tego systemu prosimy o kontakt z działem Promega Technical Services pod adresem: techserv@promega.com

1. Opis	2
2. Elementy produktu, warunki przechowywania i objaśnienie symboli	3
3. Przeznaczenie/zastosowanie produktu	5
4. Ograniczenia stosowania produktu	5
5. Przed rozpoczęciem	6
5.A. Przygotowanie próbek pełnej krwi	6
5.B. Przygotowanie kartridża Maxwell [®] CSC Whole Blood DNA Cartridge	6
6. Przebieg pracy urządzenia Maxwell [®] Instrument	8
7. Ocena wydajności analitycznej	11
7.A. Uzysk DNA	11
7.B. Jakość DNA	12
7.C. Odtwarzalność	13
7.D. Zdolność do amplifikacji	14
7.E. Inhibicja (substancje zakłócające)	15
7.F. Zanieczyszczenie krzyżowe	15
8. Ocena wydajności klinicznej	16
9. Rozwiązywanie problemów	17
10. Źródło	17
11. Powiązane produkty	18
12. Podsumowanie zmian	18

Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit jest dostępny wyłącznie w niektórych krajach.

1. Opis

Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit^(a) jest przeznaczony do stosowania w połączeniu z urządzeniami Maxwell®, które zostały przedstawione w Tabeli 1, w celu zapewnienia łatwej metody wydajnego i zautomatyzowanego przygotowania próbek i oczyszczania genomowego DNA (gDNA) w próbkach pełnej krwi ludzkiej. Urządzenia Maxwell® CSC Instrument są przeznaczone do stosowania ze wstępnie napełnionymi kartridżami z odczynnikami i wstępnie zaprogramowanymi procedurami oczyszczania, co zwiększa wygodę i upraszcza stosowanie. Metoda Maxwell® dla CSC Whole Blood DNA Kit może przetworzyć od jednej do maksymalnej liczby próbek w urządzeniu Maxwell® CSC Instrument w mniej niż 1 godzinę. Oczyszczone DNA może być stosowane bezpośrednio w różnych aplikacjach, takich jak PCR.

Tabela 1. Kompatybilny z urządzeniami.

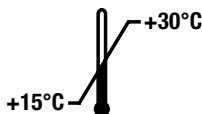
Urządzenie	Cat. #	Instrukcja techniczna	Maksymalna liczba próbek
Maxwell® CSC	AS6000	TM457	16
Maxwell® CSC 48	AS8000	TM623	48

Zasada metody: Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit umożliwia oczyszczanie gDNA z próbek przy wykorzystaniu cząsteczek paramagnetycznych, co zapewnia ruchomą fazę stałą stwarzającą optymalne warunki do wychwytywania próbki, przemywania i oczyszczania gDNA. Urządzenia Maxwell® Instrument są urządzeniami przeprowadzającymi analizy w oparciu o cząsteczki magnetyczne, które wiążą kwasy nukleinowe do cząsteczek magnetycznych w pierwszym dołku wstępnie napełnionego kartridża. Próbki są przetwarzane w ramach cykli płukania, zanim gDNA zostanie eluowane.

2. Elementy produktu, warunki przechowywania i objaśnienie symboli

PRODUKT	ILOŚĆ	CAT.#
Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit	48 preparatów	AS1820

Do stosowania w diagnostyce in vitro. Wyłącznie do użytku przez specjalistów. Zawiera ilość odczynników wystarczającą do przeprowadzenia 48 zautomatyzowanych izolacji z próbek pełnej krwi o objętości 500 µl. Kartridże są przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.



Zawartość zestawu:

- 48 kartridży Maxwell® CSC Cartridge (CSCH)
- 50 tłoczków CSC/RSC
- 50 probówek do elucji (0,5 ml)
- 20 ml buforu do elucji

Warunki przechowywania: Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit należy przechowywać w temperaturze od +15°C do +30°C.



Informacje dotyczące bezpieczeństwa: Kartridże Maxwell® CSC Cartridge (CSCH) zawierają etanol, alkohol izopropylowy, cholorowoderek guanidyny i tiocyjanian guanidyny. Etanol i izopropanol należy traktować jako substancje łatwopalne, szkodliwe i drażniące. Tiocyjanian guanidyny i chlorowoderek guanidyny należy traktować jako substancje toksyczne, szkodliwe i drażniące. Więcej informacji na temat bezpieczeństwa znajduje się w karcie charakterystyki produktu (Safety Data Sheet, SDS).



Kartridże Maxwell® CSC Cartridge (CSCH) są przeznaczone do stosowania z czynnikami potencjalnie zakaźnymi. Podczas pracy z czynnikami zakaźnymi należy nosić odpowiednie środki ochrony (np. rękawiczki i okulary ochronne). Wybielacz wchodzi w reakcję z tiocyjanianem guanidyny, który jest stosowany w kartridżach Maxwell® CSC Cartridge (CSCH), i nie należy go dodawać do odpadów próbek z tych kartridży. Należy przestrzegać obowiązujących w instytucji wytycznych dotyczących postępowania ze wszystkimi czynnikami zakaźnymi używanymi z tym systemem oraz utylizacji takich czynników.



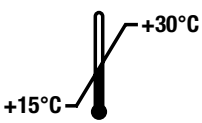














Przeostroga: Z kartridżami należy obchodzić się ostrożnie; krawędzie zamknięcia kartridża mogą być ostre.

Informacje dodatkowe: Elementy zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit zostały dopuszczone do łącznego stosowania na podstawie odpowiednich procedur kwalifikacyjnych i testów kontroli jakości. Nie zaleca się mieszania elementów zestawu z elementami zestawów różnych serii. Należy używać wyłącznie elementów dostarczonych w zestawie. Nie używać wkładów, jeśli plomba na kartridżu nie jest nienaruszona w momencie odbioru. Dodatkowe informacje dotyczące bezpieczeństwa znajdują się w karcie charakterystyki dostępnej na stronie: www.promega.com.

2. Elementy produktu, warunki przechowywania i objaśnienie symboli (ciąg dalszy)

Objaśnienie symboli

Symbol	Objaśnienie	Symbol	Objaśnienie
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Autoryzowany przedstawiciel
	Przechowywać w temperaturze od +15°C do +30°C.		Wytwórca
	Środek żrący dla skóry.		Łatwopalny
	Środek drażniący		Przeostrożność
	Conformité Européenne		Zawiera ilość wystarczającą do przeprowadzenia „n” badań
	Ostrzeżenie. Niebezpieczeństwo zmiążdżenia.		Ostrzeżenie. Zagrożenie biologiczne.
	Numer serii		Numer katalogowy
	Nie używać ponownie		

3. Przeznaczenie/zastosowanie produktu

Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit jest przeznaczony do stosowania w połączeniu z urządzeniami Maxwell® CSC Instrument oraz metodą oczyszczania DNA z krwi Maxwell® CSC Whole Blood DNA jako wyrób medyczny do diagnostyki in vitro (IVD) w celu automatycznego wyizolowania genomowego DNA z próbek pełnej krwi ludzkiej. Oczyszczone DNA nadaje się do stosowania w oznaczeniach wykonywanych na potrzeby diagnostyki in vitro opartych na amplifikacji.

Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit jest przeznaczony do stosowania w temperaturze pomiędzy 15°C i 30°C. Stosowanie zestawu poza tym zakresem temperatur może spowodować uzyskanie nieprawidłowych wyników.

Z zestawem Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit można stosować próbki pełnej krwi pobrane do próbek do pobierania krwi zawierających sól EDTA, środki przeciwkrzepliwie cytrynianu sodu lub heparyny. Poniższa tabela zawiera dopuszczalny okres przechowywania próbek w innych warunkach przed ich wykorzystaniem w zestawie Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit.

Temperatura przechowywania próbek	Okres przechowywania przed oczyszczeniem
Od 15°C do 30°C	Do 72 godz.
Od 2°C do 10°C	Do 7 dni
-65°C lub niższa	Bez ograniczeń

Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami, które pobrano do innych rodzajów próbek do pobierania krwi lub które były przechowywane w warunkach innych niż określono.

Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit jest przeznaczony wyłącznie do użytku przez specjalistów. Wyniki diagnostyczne uzyskane przy wykorzystaniu genomowego DNA oczyszczonego za pomocą tego systemu należy interpretować w połączeniu z innymi danymi klinicznymi lub laboratoryjnymi.

4. Ograniczenia stosowania produktu

Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami tkanek lub próbkami płynów ustrojowych innych niż pełna krew ludzka.

Zestaw Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami innymi niż ludzkie, w tym z próbkami bakteryjnymi i wirusowymi, ani do oczyszczania RNA.

Działanie zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit oceniono poprzez wyizolowanie DNA z próbek pełnej krwi o objętości 500 µl i liczbie krwinek białych (WBC) w zakresie od 4×10^6 do $1,1 \times 10^7$ komórek/ml przy elucji DNA w 60 µl.

Użytkownik odpowiada za ustalenie charakterystyki roboczej wymaganej w dalszych zastosowaniach diagnostycznych. W przypadku dalszych zastosowań diagnostycznych należy stosować odpowiednie środki kontrolne w zakresie używania genomowego DNA oczyszczonego za pomocą zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit.

5. Przed rozpoczęciem

Materiały zapewniane przez użytkownika

- obrotowe mieszadło do probówek do płynnych próbek krwi
- pipetory i końcówki pipet do przenoszenia próbek do wstępnie napełnionych kartridży z odczynnikami

5.A. Przygotowanie próbek pełnej krwi

Całkowity uzysk genomowego DNA z próbek pełnej krwi zależy od liczby białych krwinek w próbce. Każdy kartridż dostarczony w zestawie Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit jest przeznaczony do oczyszczania genomowego DNA z próbek pełnej krwi o objętości 500 µl i liczbie krwinek białych w zakresie od 4×10^6 do $1,1 \times 10^7$ komórek/ml pełnej krwi (wartości dla zdrowej osoby dorosłej; 1). Zaleca się zliczenie krwinek białych w każdej próbce przed rozpoczęciem oczyszczania DNA w celu upewnienia się, że próbka mieści się w tym zakresie. W przypadku próbek poza tym zakresem uzyskane wyniki mogą nie być optymalne.

Uwaga: Zestaw przetestowano na próbkach pełnej krwi ludzkiej pobranych do probówek zawierających sól EDTA, cytrynian sodu i heparynę. Wydajność zestawu nie jest gwarantowana w przypadku innych rodzajów próbek do pobierania krwi. Próbki krwi mogą być świeże (przechowywane w temperaturze od 15°C do 30°C przez maksymalnie 72 godz.), schłodzone (przechowywane w temperaturze od 2°C do 10°C przez maksymalnie 7 dni) lub zamrożone (przechowywane w temperaturze –65°C lub niższej) przed rozpoczęciem oczyszczania DNA. Zamrożone próbki należy rozmrozić przed rozpoczęciem przetwarzania. Wszystkie próbki krwi należy dokładnie wymieszać przed użyciem.

5.B. Przygotowanie kartridża Maxwell® CSC Whole Blood DNA Cartridge

1. Przed rozpoczęciem pracy z kartridżami, tłoczkami CSC/RSC Plunger i probówkami do elucji (0,5 ml) należy zmienić rękawiczki. Kartridże są ustawiane na stojakach na kartridże na zewnątrz urządzenia, a następnie stojaki na kartridże zawierające kartridże i próbki przenoszone do urządzenia w celu rozpoczęcia oczyszczania. Umieścić każdy kartridż na stojaku na kartridże tak, aby dołek nr 1 (największy dołek w kartridżu) znajdował się jak najdalej od probówek do elucji (Rysunek 2). Nacisnąć kartridż, aby zatrzasknął się w odpowiednim położeniu. Upewnić się, że oba końce kartridża znajdują się w całości na stojaku na kartridże. Ostrożnie zdjąć zamknięcie tak, aby usunąć całe zamknięcie z górnej części kartridża. Upewnić się, że cała taśma uszczelniająca i pozostałości kleju zostały usunięte z kartridża.
2. Przenieść 500 µl próbki krwi do dołka nr 1 każdego kartridża (dołek nr 1 jest największy).
3. Wymieszać próbkę krwi w dołku nr 1, pipetując ją 5–10 razy, aby upewnić się, że cała krew została przeniesiona. Wymieszanie próbki przez pipetowanie może poprawić wydajność chemiczną. Zmieniać końcówki pipet pomiędzy próbkami.
4. Umieścić jeden tłoczek w dołku nr 8 każdego kartridża.
5. Umieścić pustą probówkę do elucji w położeniu probówki do elucji dla każdego kartridża na stojakach na kartridże. Na dnie każdej probówki do elucji umieścić 60 µl buforu do elucji.

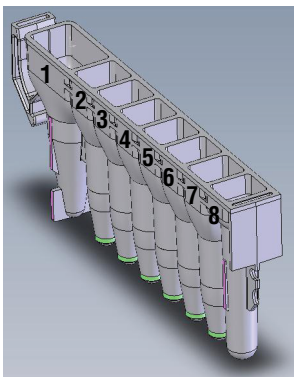
Uwagi:

- a. Należy używać wyłącznie probówek do elucji dostarczonych w zestawie Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit. Inne próbki do elucji mogą być niekompatybilne z urządzeniami Maxwell® CSC Instrument.
 - b. Należy używać wyłącznie buforu do elucji dostarczonego w zestawie Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit. Inne bufony do elucji może wpłynąć na wynik oczyszczania DNA.
6. Przejdź do rozdziału 6 — Przebieg pracy urządzenia Maxwell® Instrument.

Uwagi dotyczące przygotowania kartridży Maxwell® CSC DNA Whole Blood Cartridge:



Wycieki próbki lub odczynnika na dowolną część stojaka na kartridże należy usuwać za pomocą roztworu detergentu i wody. Następnie należy spryskać powierzchnię sprayem bakteriobójczym lub wytrzeć ściereczką i przemyć ją wodą. Nie należy stosować wybielacza do czyszczenia części urządzenia.



Użytkownik dodaje do dołków

1. Próbkę pełnej krwi (500 µl)
8. Tłoczek CSC/RSC Plunger

Rysunek 1. Kartridż Maxwell® CSC Cartridge. Próbkę pełnej krwi jest dodawana do dołka nr 1, a tłoczek jest wprowadzany do dołka nr 8.



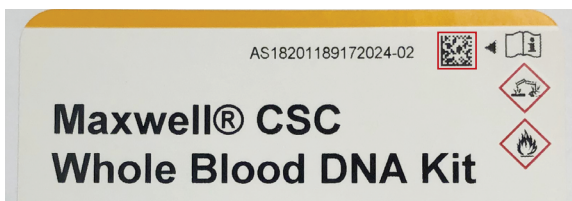
Rysunek 2. Ustawianie i konfiguracja stojaków na kartridże. Bufor do elucji jest dodawany do probówek do elucji we wskazany sposób. Przedstawiony stojak na kartridże pochodzi z urządzenia Maxwell® CSC Instrument (Cat.# AS6000).

6. Przebieg pracy urządzenia Maxwell® Instrument

Więcej informacji znajduje się w instrukcji technicznej określonego urządzenia Maxwell® CSC Instrument. Patrz Tabela 1.

1. Włączyć urządzenie Maxwell® Instrument i tablet. Zalogować się na tablecie i uruchomić oprogramowanie Maxwell® IVD-Mode, dwukrotnie dotykając ikony na pulpicie. Urządzenie przeprowadzi autotest i ustawi w położeniu wyjściowym wszystkie ruchome części.
2. Dotknąć opcji **Start** na ekranie głównym.
3. Zeskanować lub wprowadzić kod kreskowy znajdujący się w prawym górnym rogu etykiety zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit i dotknąć przycisku **OK**, aby automatycznie wybrać metodę, która zostanie zastosowana (Rysunek 3).

Uwaga: Kod kreskowy metody zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit jest wymagany do przeprowadzenia oczyszczania DNA przy użyciu urządzeń Maxwell® CSC Instrument. Etykieta zestawu zawiera dwa kody kreskowe. Kod kreskowy metody pokazano na Rysunku 3. Jeżeli nie można zeskanować kodu kreskowego, należy skontaktować się z działem Promega Technical Services.



Rysunek 3. Etykieta zestawu z kodem kreskowym do zeskanowania. Zeskanować kod kreskowy widoczny w czerwonym polu w prawym górnym rogu etykiety zestawu, aby rozpocząć cykl oczyszczania.

4. Na ekranie „Konfiguracja kartridża” dotknąć pozycji kartridża, aby zaznaczyć lub odznaczyć wszelkie położenia, które mają zostać użyte w ramach przebiegu ekstrakcji. Wprowadzić wymagane dane identyfikacyjne próbek i dotknąć przycisku **Rozpocznij**, aby kontynuować.

Uwaga: Podczas użytkowania urządzenia Maxwell® CSC 48 Instrument dotknąć przycisku **Przód** lub **Tył**, aby wybrać lub cofnąć wybór pozycji kartridża w przypadku odpowiedniego stojaka na kartridże.

5. Po otwarciu drzwi potwierdzić, czy wykonano wszystkie czynności z listy kontrolnej ekstrakcji. Sprawdzić, czy próbki zostały dodane do dolka nr 1 kartridży, czy kartridże zostały załadowane do urządzenia, czy otwarte próbki do elucji zawierające bufor do elucji są obecne oraz czy tłoczki zostały umieszczone w dolku nr 8. Przenieść stojak na kartridże zawierającą przygotowane kartridże na platformę urządzenia Maxwell® Instrument.

Wkładanie stojaka na kartridże Maxwell®: Stojak na kartridże należy trzymać za brzegi, aby uniknąć wypadnięcia kartridży. Upewnić się, że stojak na kartridże został umieszczony w urządzeniu Maxwell® Instrument w taki sposób, że próbki do elucji znajdują się możliwie jak najbliżej drzwi. Przesunąć tył stojaka na kartridże w dół i ustawić ją na urządzeniu tak, aby jej tył był oparty o tylną część platformy urządzenia. Docisnąć przednią część stojaka na kartridże, aby osadzić go na platformie urządzenia. W przypadku trudności z ustawieniem stojaka na kartridże na platformie sprawdzić, czy stojak na kartridże jest ułożony w prawidłowej orientacji. Upewnić się, że stojak na kartridże jest odpowiednio wyrównany i osadzony na platformie urządzenia.

Uwaga: Sprawdzić identyfikator na stojakach na kartridże Maxwell® z 24 pozycjami, aby określić, czy powinny zostać umieszczone z przodu, czy z tyłu urządzenia.

6. Nacisnąć przycisk **Start**, aby rozpocząć przebieg ekstrakcji. Platforma zostanie wsunięta, a drzwi zostaną zamknięte.



Ostrzeżenie: Niebezpieczeństwo zmiążdżenia.

Uwaga: W przypadku korzystania z urządzenia Maxwell® Instrument z 48 pozycjami i włączenia systemu wizualizacji skanowanie stojaków na kartridże rozpocznie się po wsunięciu platformy. Wszelkie błędy w konfiguracji stojaków na kartridże (np. tłoczki nieznajdujące się w dolku nr 8, brak otwartych próbek do elucji) spowoduje, że oprogramowanie powróci do ekranu „Konfiguracja kartridża”, a problematyczne pozycje zostaną oznaczone wykrzyknikiem w czerwonym okręgu. Dotknąć wykrzyknika, aby uzyskać opis błędu i rozwiązać problemy związane z błędami. Ponownie dotknąć przycisku **Start**, aby powtórzyć skanowanie stojaków na kartridże i rozpocząć przebieg ekstrakcji.

7. Urządzenie Maxwell® Instrument natychmiast rozpocznie cykl oczyszczania. Na ekranie będą wyświetlone wykonywane czynności oraz przybliżony czas pozostały do zakończenia przebiegu.

Uwagi:

1. Dotknięcie przycisku **Przerwij** spowoduje przerwanie przebiegu. Wszystkie próbki z przerwane go przebiegu zostaną utracone.
 2. Jeśli przebieg zostanie przerwany przed ukończeniem, może wyświetlić się monit z prośbą o sprawdzenie, czy tłoczki są nadal załadowane na słupku tłoczków. Jeśli tłoczki znajdują się na słupku tłoczków, należy przeprowadzić procedurę **Czyszczenie** po wyświetleniu monitu. Jeśli tłoczki nie znajdują się na słupku tłoczków, można pominąć procedurę **Czyszczenie** po wyświetleniu monitu. Próbkki zostaną utracone.
8. Po zakończeniu przebiegu w interfejsie użytkownika zostanie wyświetlony komunikat informujący o zakończeniu metody.

6. Przebieg pracy urządzenia Maxwell® Instrument (ciąg dalszy)

Koniec przebiegu

9. Po zakończeniu metody postępować zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie, aby otworzyć drzwi. Sprawdzić, czy tłoczki znajdują się w dolku nr 8 kartridża po zakończeniu cyklu. Jeśli tłoczki nie zostaną usunięte ze słupka tłoczków, należy postępować zgodnie z wytycznymi przedstawionymi w instrukcji obsługi określonego urządzenia Maxwell® Instrument (patrz Tabela 1), aby przeprowadzić procedurę **Czyszczenie** i podjąć próbę rozładunku tłoczków.

10. Wyjąć stojaki na kartridże z urządzenia natychmiast po zakończeniu cyklu, aby zapobiec odparowaniu eluatów. Wyjąć próbówki do elucji zawierające DNA i zatkać próbówki.

Uwaga: Po zakończeniu procedury automatycznego oczyszczania stojaki na kartridże będą nagrzane. Podczas zdejmowania stojaka na kartridże z platformy urządzenia należy chwycić ją za krawędzie.

Przed uruchomieniem protokołu odkażania przy użyciu promieniowania ultrafioletowego upewnić się, że próbki zostały usunięte z urządzenia w celu zapobieżenia uszkodzeniu oczyszczonego kwasu nukleinowego.

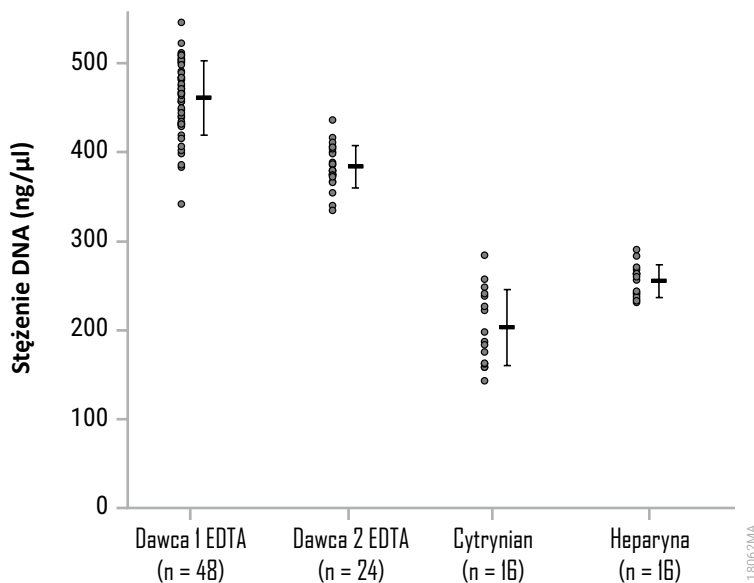


11. Wyjąć kartridże i tłoczki ze stojaków na kartridże Maxwell®. Zutylizować je jako odpady niebezpieczne zgodnie z procedurami obowiązującymi w instytucji. Nie wolno ponownie używać kartridży Maxwell® CSC Cartridge, tłoczków CSC/RSC Plunger ani próbek do elucji.

7. Ocena wydajności analitycznej

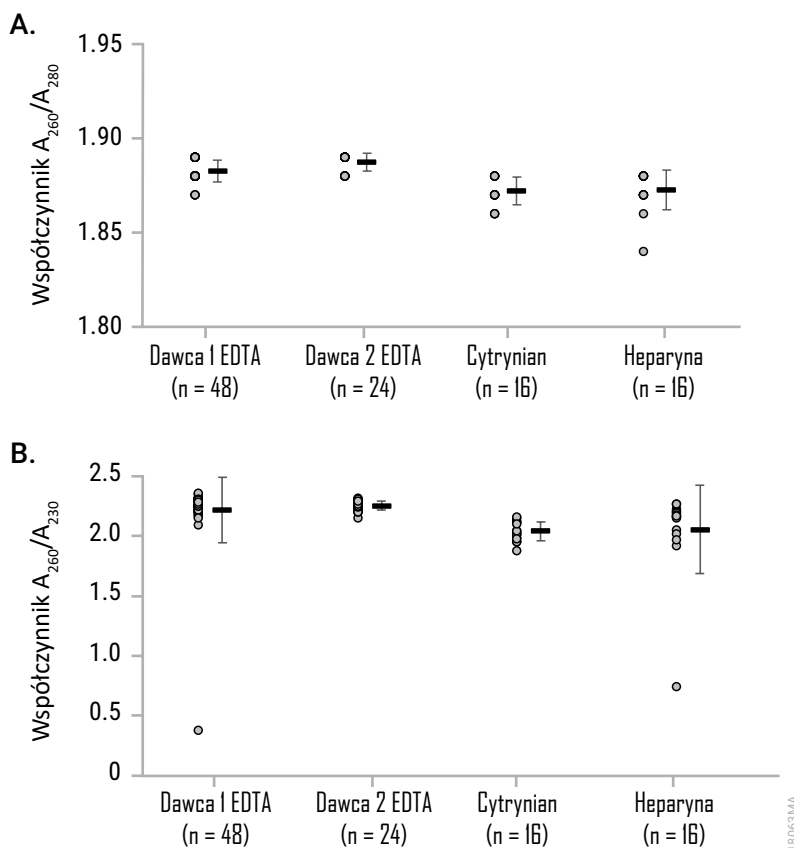
Wydajność analityczna została oceniona przy użyciu próbek ludzkiej krwi pełnej za pomocą zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit oraz urządzeń Maxwell® CSC i Maxwell® CSC 48.

7.A. Uzysk DNA



Rysunek 4. Stężenie DNA mierzone absorbcją (A_{260}). Replikaty DNA wyekstrahowano z 500 μ l krwi pełnej zebranej w wymienionych probówkach z antykoagulantem. Dla każdego zestawu danych kropki po lewej stronie reprezentują indywidualne pomiary, podczas gdy średnie stężenie DNA we wszystkich powtórzeniach z odchyleniem standardowym pokazano po prawej stronie. Średnie stężenia DNA zawierały się w zakresie 203,0–461,0 ng/ μ l.

7.B. Jakość DNA



Rysunek 5. Współczynniki czystości A_{260}/A_{280} i A_{260}/A_{230} . Jakość DNA określono, obliczając współczynniki absorbancji dla eluatów uzyskanych z wielu 500 μ l powtórzeń próbek krwi pełnej zebranych do probówek zawierających EDTA, cytrynian lub heparynę jako antykoagulant. Rysunek przedstawia współczynniki A_{260}/A_{280} (**Panel A**) i A_{260}/A_{230} (**Panel B**). Dla każdego zestawu danych kropki po lewej stronie reprezentują indywidualne pomiary, podczas gdy średni współczynnik z odchyleniem standardowym pokazano po prawej stronie. Średnie współczynniki A_{260}/A_{280} zawierały się w przedziale 1,87–1,89. Średnie współczynniki A_{260}/A_{230} zawierały się w przedziale 2,04–2,25.

7.C. Odtwarzalność

Tabela 2. Odtwarzalność uzysku DNA. Procentowy współczynnik zmienności między seriami (% CV) dla uzysku DNA oczyszczonego z 3 przebiegów po 8 powtórzeń krwi pełnej (500 µl każda) przy użyciu zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit, przeprowadzonego na urządzeniach Maxwell® nr 1 i nr 2. Średni uzysk DNA oceniano metodą spektroskopii absorpcyjnej.

Numer urządzenia (n = 24)	Średni uzysk (µg)	Odchylenie standardowe (µg)	% CV
1	17,8	1,9	10,7
2	16,7	1,4	8,5

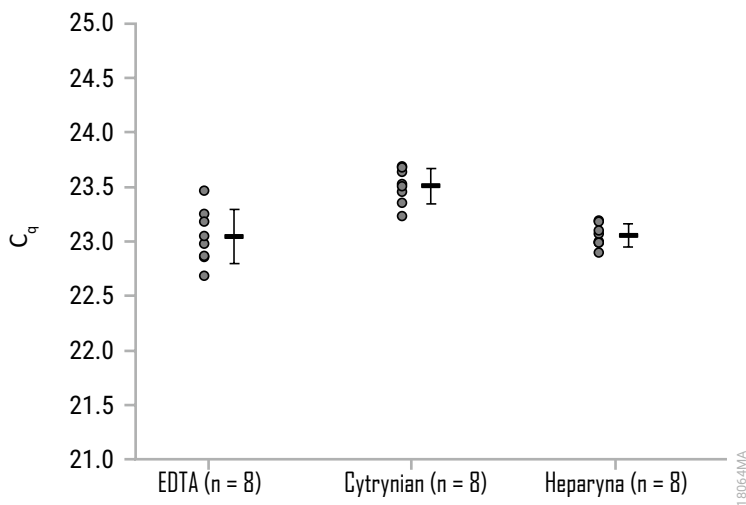
Tabela 3. Procentowy współczynnik zmienności wewnątrz serii. Zmienność w ramach jednej serii określono dla wielu przebiegów pracy urządzenia obejmujących każdy typ probówki do pobierania krwi. Każda seria obejmowała 8 powtórzeń 500 µl próbek krwi pełnej. W poniższej tabeli przedstawiono średni uzysk oczyszczonego DNA z 8 powtórzeń w każdej serii, oceniany za pomocą spektroskopii absorpcyjnej, odchylenia standardowego i procentowego współczynnika zmienności (% CV). Wartości procentowe CV dla przebiegów wahały się od 2,7–11,6.

Numer serii (n = 8)	Rodzaj probówki do krwi	Średni uzysk (µg)	Odchylenie standardowe (µg)	% CV
1	EDTA ¹	18,8	1,4	7,3
2	EDTA ¹	18,0	1,9	10,3
3	EDTA ¹	16,5	1,9	11,6
4	Heparyna	10,1	0,3	2,7
5	EDTA ²	14,8	0,8	5,5
6	Cytrynian	9,3	0,9	9,4
7	EDTA ¹	17,0	1,5	9,0
8	EDTA ¹	17,3	1,2	7,2
9	EDTA ¹	15,9	1,2	7,7
10	EDTA ²	16,1	0,7	4,1
11	EDTA ²	14,9	0,6	4,3
12	Cytrynian	6,6	0,6	9,0
13	Heparyna	9,2	0,5	5,4

¹ Dawca 1

² Dawca 2

7.D. Zdolność do amplifikacji



Rysunek 6. Amplifikacja qPCR. Eluaty analizowano metodą qPCR po rozcieńczeniu do stężenia w ramach krzywej standardowej qPCR. Eluaty EDTA rozcieńczono 50-krotnie, natomiast eluaty z cytrynianem i heparyną rozcieńczono 20-krotnie. Próbkę te dały autosomalne wartości C_t w zakresie 22,69–23,69 cyklu, które były niższe niż średnia wartość C_t dla wzorca DNA o objętości 0,0032 ng/ μ l (35,12 cyklu).

7.E. Inhibicja (substancje zakłócające)

Tabela 4. Eluaty DNA analizowano metodą qPCR w celu zidentyfikowania potencjalnego hamowania przez substancje zakłócające. Eluaty DNA rozcieńczono do dwóch stężeń w obrębie krzywej standardowej qPCR, które reprezentują ośmiokrotną różnicę w stężeniu DNA i analizowano za pomocą qPCR w celu określenia różnicy w wartościach C_q (ΔC_q) między dwoma rozcieńczeniami. Oczekuje się, że otrzymana wartość ΔC_q wyniesie 3 cykle ± 1 cykl w oparciu o ten współczynnik rozcieńczenia. Eluaty próbki dały ΔC_q 2,5–3,3 cyklu, co wskazuje na brak wykrywalnego hamowania amplifikacji DNA.

Numer próbki	Wstępny C_q	C_q ośmiokrotnego rozcieńczenia	ΔC_q
1	23,3	26,1	2,8
2	23,1	26,0	2,9
3	22,9	25,6	2,7
4	23,5	26,1	2,5
5	23,6	26,5	3,0
6	23,2	26,4	3,2
7	23,1	26,1	3,0
8	23,1	26,2	3,1
9	23,3	26,0	2,8
10	22,9	25,8	2,9
11	22,7	25,5	2,8
12	23,0	25,9	2,9
13	23,5	26,3	2,8
14	23,1	26,0	3,0
15	22,9	26,0	3,1
16	23,2	26,5	3,3

7.F. Zanieczyszczenie krzyżowe

Próbki krwi pełnej męskiej i żeńskiej, każda po 500 μ l, poddano obróbce w naprzemiennych pozycjach pokładu w urządzeniu Maxwell[®] CSC Instrument w trybie IVD. Otrzymane eluaty analizowano za pomocą qPCR docelowego DNA chromosomu Y w celu wykrycia jakiegokolwiek zanieczyszczenia krzyżowego męskiego DNA w próbkach żeńskich. Nie wykryto zanieczyszczenia krzyżowego. Eluaty z próbek męskich rozcieńczono 50-krotnie i dały wartości C_q w zakresie 22,69–23,55. Próbki żeńskiego DNA nie miały wykrywalnych wartości C_q dla docelowego DNA chromosomu Y.

8. Ocena wydajności klinicznej

Wydajność kliniczna została oceniona przy użyciu próbek ludzkiej krwi pełnej za pomocą zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit oraz urządzenia Maxwell® CSC 48.

Tabela 5. Test HLA-B27 z ludzką krwią pełną. Test HLA-B27 przeprowadzono przez zewnętrzne laboratorium przy użyciu DNA wyekstrahowanego z ludzkiej krwi pełnej z 12 próbek przypuszczalnie dodatnich i 12 próbek przypuszczalnie ujemnych. Ekstrakcja DNA została przeprowadzona przez dwóch testerów przy użyciu zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit oraz standardowej laboratoryjnej metody ekstrakcji DNA (Laboratoryjna metoda referencyjna). Eluaty DNA otrzymane przy użyciu zestawu Maxwell® CSC Whole Blood DNA Kit rozcieńczono pięciokrotnie i poddano analizie qPCR z eluatami DNA z laboratoryjnej metody referencyjnej ekstrakcji. 24 próbki wykazały zgodność między dwoma testerami systemu Maxwell® CSC i laboratoryjną metodą referencyjną.

Unikalne próbki pacjentów i przypuszczalny status HLA-B27	System oczyszczania Maxwell® CSC		Laboratoryjna metoda referencyjna
	Tester A	Tester B	
12 dodatnich	12 dodatnich	12 dodatnich	12 dodatnich
12 ujemnych	12 ujemnych	12 ujemnych	12 ujemnych

9. Rozwiązywanie problemów

W przypadku pytań, na które nie można znaleźć odpowiedzi w niniejszym dokumencie, należy skontaktować się z lokalnym oddziałem firmy Promega lub jej dystrybutorem. Informacje kontaktowe są dostępne pod adresem:

www.promega.com. Adres e-mail: **techserv@promega.com**

Objawy

Przyczyny i komentarze

Stężenie niższe niż oczekiwane

W krwi poddanej wielokrotnym cykлом zamrażania i rozmrażania może dojść do degradacji DNA. Należy używać próbek, które zostały pobrane i były przechowywane w warunkach podanych w rozdziale 3.

Próbka pełnej krwi zawierała małą liczbę krwinek białych. Stężenie genomowego DNA z próbek krwi zależy od liczby krwinek białych obecnych w próbce.

Nie zmieszano próbki pełnej krwi przed przetworzeniem. Przed rozpoczęciem należy wymieszać próbki pełnej krwi, aby upewnić się, że krwinki białe znajdują się w zawieszynie.

Czystość niższa niż oczekiwana

Krew przechowywano w stanie niezamrożonym przez dłuższy okres czasu lub była poddawana wielokrotnym cyklom zamrażania i rozmrażania. Należy używać próbek, które zostały pobrane i były przechowywane w warunkach podanych w rozdziale 3.

Krew nie została zmieszana z zawartością dołka nr 1 podczas dodawania do kartridża. Wymieszać próbkę krwi w dołku nr 1 pipetując ją 5–10 razy.

Przenoszenie żywicy

Przenoszenie żywicy jest zjawiskiem normalnym i nie ma wpływu na wydajność dalszych etapów badania. Jeśli to konieczne, użyć magnesu elucyjnego (Cat.# AS4017, Cat.# AS4018 lub oba), aby przenieść eluat do nowej próbki. Patrz rozdział 11, Powiązane produkty.

Wszelkie poważne incydenty mające miejsce w związku z urządzeniem, które doprowadziły lub mogą prowadzić do śmierci lub poważnych obrażeń użytkownika lub pacjenta, należy niezwłocznie zgłaszać producentowi. Użytkownicy mający siedzibę w Unii Europejskiej powinni również zgłaszać wszelkie poważne incydenty właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę.

10. Źródło

1. Henry, J.B. (2001) *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 20th ed., W.B. Saunders Company, 509.

11. Powiązane produkty

Urządzenie i akcesoria

Produkt	Ilość	Cat.#
Maxwell® CSC 48 Instrument*	1 szt.	AS8000
Maxwell® CSC Instrument*	1 szt.	AS6000
Maxwell® RSC/CSC Deck Tray	1 szt.	SP6019
Maxwell® RSC/CSC 48 Front Deck Tray	1 szt.	AS8401
Maxwell® RSC/CSC 48 Back Deck Tray	1 szt.	AS8402
Elution Tubes (0,5 ml)	50 szt./zestaw	AS6201
Elution Magnet, 16 Position	1 szt.	AS4017
Elution Magnet, 24 Position	1 szt.	AS4018

* Do stosowania w diagnostyce in vitro. Niniejszy produkt jest dostępny wyłącznie w niektórych krajach.

Zestawy odczynników Maxwell® CSC

Na stronie www.promega.com znajduje się lista dostępnych zestawów do oczyszczania Maxwell® CSC.

12. Podsumowanie zmian

W wersji 10/22 niniejszego dokumentu wprowadzono następujące zmiany:

1. Rozdział 3 została zmieniona na Przeznaczenie/zastosowanie produktu.
2. Dodano rozdziały 7 i 8, a kolejne zmieniły numerację.
3. Dokument zaktualizowany pod kątem zgodności z Rozporządzeniem (UE) 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro.
4. Dodano oświadczenie dotyczące zrzeczenia się odpowiedzialności.

^(a)Amerykańska publikacja patentowa nr 7,329,488 oraz południowokoreańska publikacja patentowa nr 100483684.

© 2021–2022 Promega Corporation. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Maxwell jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Promega Corporation.

Produkty mogą być przedmiotem zgłoszonych bądź przyznanych patentów lub mogą podlegać pewnym ograniczeniom. Więcej informacji można znaleźć na naszej stronie internetowej.

Wszystkie ceny i dane techniczne mogą ulec zmianie bez wcześniejszego powiadomienia.

Oświadczenia dotyczące produktów mogą ulec zmianie. Aby uzyskać aktualne informacje na temat produktów firmy Promega, należy skontaktować się z działem Promega Technical Services lub zapoznać się z katalogiem produktów firmy Promega dostępnym w Internecie.