

ePure STD DNA Extraction Kit (E2007)

Návod k použití (Příručka)



Verze: 1.1



48



Ecoli Dx, s.r.o.
IČO: 10707409
Purkyňova 74/2
110 00 Praha 1
Česká republika



Před použitím tohoto produktu si přečtěte a dodržujte tento návod k použití.

Obsah

Použití.....	3
Úvod	3
Obsah soupravy a skladování	4
Požadovaný materiál, který není součástí soupravy.....	5
Varování a bezpečnostní opatření	5
Princip izolace	7
Před zahájením	8
Příprava vzorku	8
Postup izolace pomocí přístroje ePure a MagPurix.....	9
Izolační protokol - série MagPurix®.....	10
Izolační protokol - ePure a série MagPurix® EVO	11
Skladování, kvantifikace a stanovení kvality DNA.....	12
Řešení problémů.....	13
Související produkty	13
Omezená záruka na produkt	14
Historie revizí	14

Použití

Souprava ePure STD DNA Extraction Kit poskytuje kompletní sadu reagensů a spotřebního materiálu pro automatickou izolaci STD DNA (např. *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, Lidský papilomavirus, atd.) z výtěrů, moči a semenné tekutiny.

Produkt je určen k použití profesionálními uživateli, jako jsou technici a lékaři vyškolení v technikách molekulární biologie.

Úvod

Název produktu	ePure STD DNA Extraction Kit
Katalogové číslo	E2007
Přehled o produktu	Souprava ePure STD DNA Extraction Kit je navržena k izolaci pohlavně přenosných patogenů včetně HPV DNA z výtěrů, moči a semenné tekutiny. Souprava využívá jedinečnou magnetickou technologii ZiBeads® a v kombinaci s automatickými přístroji řady ePure / MagPurix®. Konečný produkt je vhodný pro širokou škálu diagnostických a výzkumných aplikací, jako je sekvenování, genotypování, testy qPCR, ddPCR a NGS.
Aplikovatelné pro model přístroje	Všechny přístroje ePure a MagPurix®
Název protokolu na displeji přístroje	2007 HPV DNA
Čas zpracování	ePure: 45 minut MagPurix® 12: 45-65 minut MagPurix® 24: 50-65 minut MagPurix® EVO: 40-50 minut

Obsah soupravy a skladování

Přeprava a skladování	Souprava je zasílána při pokojové teplotě. Po dodání skladujte soupravu při pokojové teplotě. Při správném skladování jsou všechny součásti soupravy stabilní až do data expirace uvedeného na krabičce soupravy.	
Obsah soupravy	Níže jsou uvedeny komponenty dodávané v soupravě. Dodává se dostatečné množství reagensů pro provedení 48 izolací.	
	Obsah	Množství
	1 Reagenční kazeta	48 pcs (6x8)
	2 Reakční komůrka	48 pcs (6x8)
	3 Držák špiček	48 pcs (6x8)
	4 Propichovací kolík	50 pcs
	5 Špička s filtrem	50 pcs
	6 Zkumavka na vzorek (2 mL)	50 pcs
	7 Eluční zkumavka (1.5 mL)	50 pcs
	BL4 pufr (25 mL)	1 pc
	Nálepka s čárovým kódem	50 pcs

Obsah
reagenční
kazety

Každá reagenční kazeta má 10 pozic a 10 uzavřených jamek.
Pozice 1-10 obsahují reagensie pro tento protokol.

Reagensie	Číslo jamky
Roztok proteinázy K	1
Lyzační pufr 2A	2
Vazebný pufr 1	3
Roztok s magnetickými kuličkami	4
Promývací pufr 1	5
Promývací pufr A	6
Promývací pufr B	7
Eluční pufr 1	8
Eluční pufr 2	9
Prázdna	10



Požadovaný materiál, který není součástí soupravy

K provedení izolace je zapotřebí následující obecné laboratorní vybavení a spotřební materiál. Veškeré laboratorní vybavení by mělo být instalováno, kalibrováno, provozováno a udržováno dle doporučení výrobce. Následující tabulka zobrazuje požadované a speciální vybavení spolu se seznamem spotřebního materiálu.

Položka
Přístroj ePure nebo MagPurix®
Mikrocentrifugační zkumavky 1.5 nebo 2.0 mL
Pipety a špičky s filtrem
Fosfátový pufr (PBS, může být vyžadován pro naředění vzorků)
Volitelně: DNase-free RNáza A (pro minimalizování obsahu RNA), spotřební materiál

Varování a bezpečnostní opatření

Pouze pro in vitro diagnostické použití. Před použitím soupravy si pozorně přečtěte všechny pokyny. Použití tohoto produktu by mělo být omezeno na vyškolený personál v technikách izolace DNA. Pro dosažení optimálních výsledků je nutné přísné dodržování uživatelské příručky. Je třeba věnovat pozornost datům expirace vytištěným na krabičce a štítcích všech komponent. Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby použitelnosti.

Při práci s chemikáliemi vždy noste vhodný laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace naleznete v příslušných bezpečnostních listech. Ty jsou k dispozici online v pohodlném a kompaktním formátu PDF na adrese <https://www.biolife-sro.cz>.

- Nepoužívejte soupravu, pokud je některý spotřební materiál deformovaný nebo je poškozena kartridž, nebo pokud nebyly dodrženy podmínky přepravy a skladování dle návodu k použití.
- Při nedodržení pracovních podmínek může dojít k ovlivnění funkcí soupravy a získané výsledky nemusí být validní.
- V laboratorních pracovištích nejezte, nepijte, nekuřte, nepoužívejte kosmetiku a nemanipulujte s kontaktními čočkami.
- Všechny vzorky a nepoužitá činidla zlikvidujte v souladu s místními předpisy.
- Vzorky by měly být považovány za potenciálně infekční a mělo by se s nimi manipulovat v biologickém boxu v souladu s příslušnými postupy biologické bezpečnosti.
- Vyčistěte a dezinfikujte všechny rozlité vzorky nebo činidla pomocí dezinfekčního prostředku, například 0,5 % chlornanu sodného nebo jiného vhodného dezinfekčního prostředku.
- Zamezte kontaktu vzorků a činidel s kůží, očima a sliznicemi. Při kontaktu s těmito roztoky okamžitě

- opláchněte zasažené místo vodou a v případě potřeby desinfikujte, či vyhledejte lékařskou pomoc.
- Při dodržení podmínek přepravy, provozu a skladování nehrozí nebezpečí výbuchu a vznícení.
 - Izolační souprava je určena k jednorázovému použití pro izolaci na automatickém izolátoru ePure na počet vzorků 48. Soupravu používejte výhradně k určenému účelu.
 - Jakákoliv závažná nežádoucí příhoda, ke které došlo v souvislosti s používáním kitu, musí být hlášena výrobcí EcoliDx a písemně oznámena Státnímu ústavu pro kontrolu léčiv.
 - V případě poruchy soupravy nebo zhoršení její funkce, které mohou ohrozit jeho funkční způsobilost, se musí souprava přestat používat a neprodleně kontaktovat výrobce.



UPOZORNĚNÍ: NEPOUŽÍVEJTE bělidla nebo kyselé roztoky přímo do odpadu z přípravy vzorku.

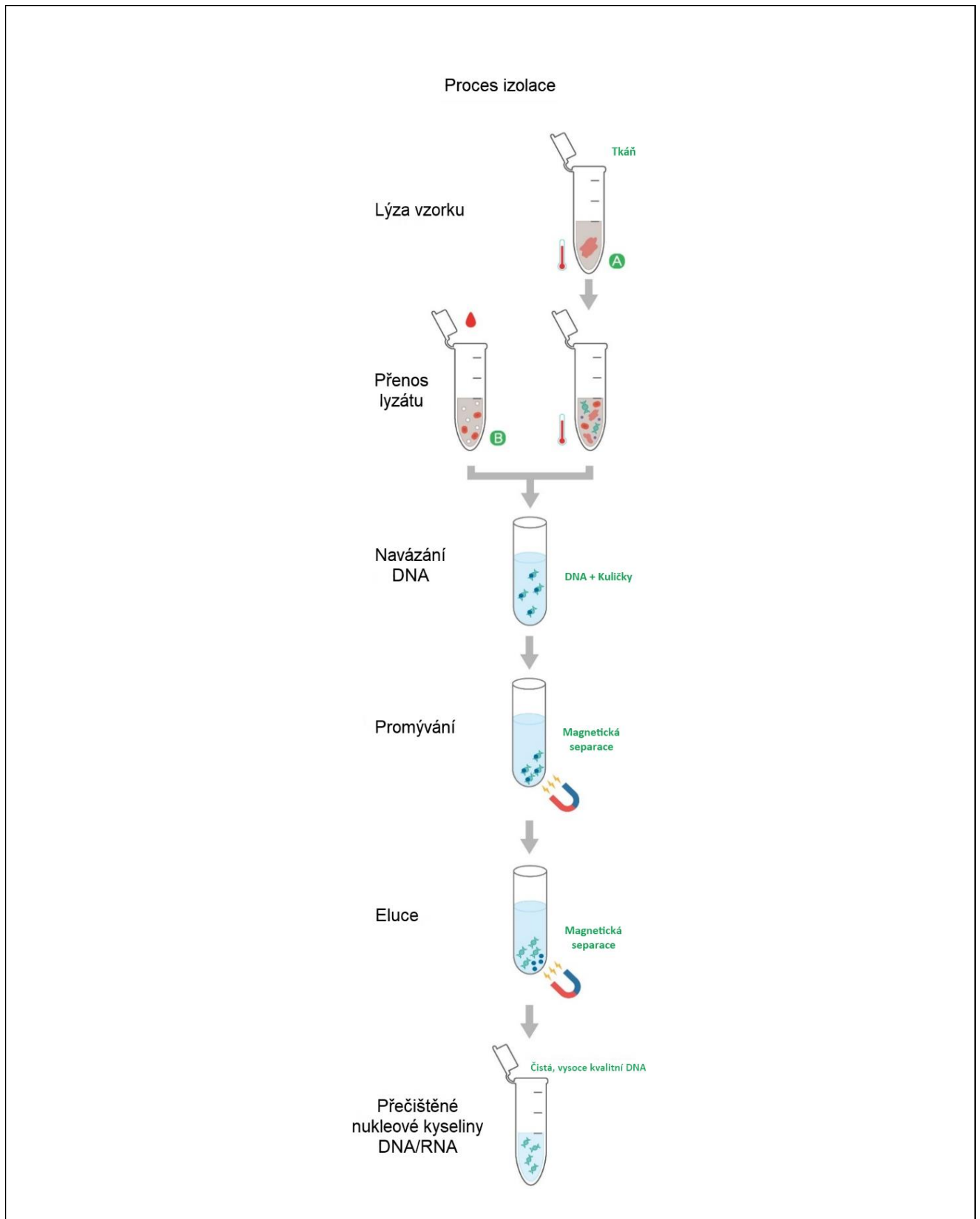
Kontrola kvality

V souladu s ISO certifikovaným systémem managementu kvality EcoliDx je každá souprava testována podle předem stanovených specifikací, aby byla zajištěna stálá kvalita produktu.

Pro posouzení shody byly dále použity a dodrženy následující technické normy:

- | | |
|------------------|---|
| ČSN EN ISO 13485 | Zdravotnické prostředky – Systém managementu kvality – Požadavky pro účely předpisů |
| ČSN EN ISO 14971 | Zdravotnické prostředky – Aplikace řízení rizika na zdravotnické prostředky |

Princip izolace



- A Přeneste vzorek přímo do izolačního procesu
- B Před izolací je prováděna určitá předúprava vzorku.

Před zahájením

Příprava vzorku

Postup izolace je optimalizován pro 100-400 µl vzorku z buněk děložního čípku shromážděných cervikálním štětečkem nebo genitálním tamponem, předpřipravené moči (sediment), spermatu.

Moč	a. Shromážděte 10 až 20 ml prvního proudu moči do sterilní nádoby. Centrifugujte po dobu 30 minut při 3000 x g. b. Supernatant opatrně odeberte a zlikvidujte, nechte asi 200 µl roztoku. c. Resuspendujte sediment. Suspenzi použijte pro extrakci DNA.
V tekutém konzervačním roztoku (Např. Hologic Thinprep PreservCyt®, BD Surepath™)	a. Přeneste množství vzorku doporučené v tabulce níže do 1,5ml mikrocentrifugační zkumavky. b. Centrifugujte zkumavku při 1 000 x g po dobu 5 minut. c. Zlikvidujte supernatant. d. Resuspendujte peletu pomocí 220 µl pufru BL4. e. Směs inkubujte při pokojové teplotě po dobu 5 minut. f. Vortexujte 5 sekund. g. Přeneste 200 µl supernatantu do zkumavky na vzorek.
V jiném konzervačním roztoku (Např. QIAGEN DNA PAP)	a. Přidejte stejné množství pufru BL4 přímo do konzervačního roztoku (BL4: STM = 1:1). b. Inkubujte směs při pokojové teplotě po dobu 5-10 minut. c. Vortexujte 5 sekund. d. Přeneste 100-400 µl supernatantu do zkumavky na vzorky.

Poznámka:

Vzorky cervikálních buněk se odebírají cervikálním kartáčkem nebo genitálním tamponem do tekutého média* (např. systém ThinPrep, systém SurePath atd.) nebo jiného tekutého konzervačního roztoku pro transport vzorků (STM) (např. QIAGEN DNA PAP Cervical sampler, Roche Cobas® PCR Cell Collection Media, HybriBio roztok pro uchování buněk atd.). *Tekutá média jsou určena pro konzervaci buněk a používají se v tekutých cytologických (LBC) vzorcích pro cytologickou a molekulární diagnostiku.

U netekutých médií se doporučuje přidat BL4 pufr.

Vzorky by měly být uloženy do 4-30 °C ihned po odběru. Podmínky skladování závisí na konzervačním roztoku.

Lepkavý hlen je obvyklý ve vzorcích z děložního čípku, přidání pufru BL4 před zpracováním pomůže zkapalnění vzorku a extrakci nukleové kyseliny.

Navrhovaný výchozí materiál a eluční objem pro každou izolaci nukleových kyselin.

Typ vzorku	Výchozí materiál vzorku	Eluční objem
Cervikální výtěr	100-400 μ l	ePure 50-200 μ l (50-300 μ l)
Transportní medium		

Postup izolace pomocí přístroje ePure a MagPurix

Postup práce pro ePure a Magpurix

Umístěte reagenční kazetu a spotřební plast do přístroje ePure a Magpurix



Vyberte protokol a nastavte podmínky



Nastavte pracovní stůl, postupujte dle informačních zpráv na obrazovce



Zahajte běh protokolu



Odeberte eluát *



UV dekontaminace


* Výstup záznamu (volitelně)


Poznámka: Pokud není uvedeno jinak, proveďte všechny kroky při pokojové teplotě (20–25 ° C).

Izolační protokol - série MagPurix®

1	Zapněte přístroj	a. Zapněte přístroj vypínačem na ON – a vyčkejte a spuštění obrazovky.
2	Vložte nový jednorázový plast a reagenční kazety	a. Otevřete dvířka a vyjměte stojánek na vzorky z přístroje. b. Vložte 1 Reagenční kazetu a potřebný jednorázový plast (2 Reakční komůrka, 3 Držák špiček, 4 Propichovací kolíky, 5 Špičky s filtrem a další součásti, pokud jsou přítomny v soupravě, která má být použita). c. Umístěte 6 Zkumavky na vzorek a 7 Eluční zkumavky do stojánku pro vzorky.
3	Přeneste vzorky do přístroje	a. Přeneste příslušné množství vzorku do zkumavek pro vzorky umístěné ve stojánku na vzorky. b. Vložte stojánek na vzorky zpět do přístroje a zavřete dvířka.
4	Nastavení programu	a. Naskenujte čárové kódy protokolu a vyberte protokol izolace, objem vzorku a eluce.
5	Start izolace	a. Postupujte podle pokynů na obrazovce a před spuštěním programu zkontrolujte, zda jsou dokončeny všechny kroky. b. Stiskněte "ENTER" a zahajte experiment. Přístroj provede automaticky program protokolu až do dokončení celého procesu. c. Na konci běhu (12 pozic přibližně 40-60min, 24 pozic 40-65min), přístroj krátce zapíská.
6	Odebrání elučních zkumavek	a. Otevřete dvířka přístroje. b. Odeberte eluční zkumavky obsahující vyizolované nukleové kyseliny. c. Vyizolované nukleové kyseliny jsou připraveny k okamžitému použití. Před prováděním následných analýz skladujte vyizolované nukleové kyseliny při teplotě 4 °C (krátkodobě, méně než 10 dní) nebo v alikvotách při -70 °C (dlouhodobě). d. Zlikvidujte použité reagenční kazety, veškerý jednorázový plast do biohazardního odpadu. *Reagenční kazety nepoužívejte opakovaně. e. Pokud přístroj nepoužíváte, umístěte stojánek na vzorky zpět na pracovní plochu přístroje, zavřete dvířka přístroje a stiskněte na 2 sekundy tlačítko „Start“, abyste se dostali do „režimu spánku“. Pokud nebudete přístroj delší dobu používat, vypněte napájení.

Izolační protokol - ePure a série MagPurix® EVO

1 Zapněte přístroj	<ol style="list-style-type: none">Zapněte přístroj přepínačem na ON – a vyčkejte na spuštění obrazovkyPřihlašte se a zobrazte domovskou stránku
2 Vložte nový jednorázový plast a reagenční kazety	<ol style="list-style-type: none">Otevřete dvířka a vyjměte stojánek na vzorky z přístroje.Otevřete víko držáku na špičky.Vložte 1 Reagenční kazetu a potřebný jednorázový plast (2 Reakční komůrku, 3 Držák špičky, 4 Propichovací kolíky, 5 Špičky s filtrem a další součásti, pokud jsou přítomny v soupravě, která má být použita).Zavřete víko držáku špiček.Nalepte štítek s čárovým kódem na eluční zkumavky.Umístěte 6 Zkumavky pro vzorek a 7 Eluční zkumavky do stojánu.
3 Přeneste vzorky do přístroje	<ol style="list-style-type: none">Přeneste příslušné množství vzorku do zkumavek se vzorky na stojánu na vzorky.Vložte stojánek zpět do přístroje a zavřete dvířka.
4 Nastavení programu	<ol style="list-style-type: none">Vyberte vhodný program protokolu. Stiskněte NEXT.Vyberte příslušný objem vzorku/eluční objem a stiskněte NEXT.Stisknutím číselného tlačítka vyberte správný počet vzorků.Přímo oskenujte / upravte každé ID vzorku. Po dokončení stiskněte NEXT. Přímo oskenujte / upravte každé ID eluční zkumavky. Po dokončení stiskněte NEXT.Scan / Edit each Elution Tube ID directly. After finished, Press NEXT.Naskenujte čárový kód reagenční kazety. Stiskněte NEXT. * Pokud je reagenční kazeta expirovaná, nelze provést další krok.Postupujte dle pokynů na obrazovce a před spuštěním programu znovu zkontrolujte kroky nastavení před spuštěním programu. Stiskněte NEXT.
5 Start izolace	<ol style="list-style-type: none">Zkontrolujte na obrazovce "PROGRAM CONFIRMATION".Stiskněte "START" abyste zahájili program. Přístroj provede automaticky program protokolu až do dokončení celého procesu.Na konci běhu (přibližně 45 minut), přístroj krátce zapípá a na obrazovce se objeví "PROGRAM FINISH".Pokud nechcete spustit stejný experiment, stiskněte funkční tlačítko  "HOME" abyste opustili režim experimentu.

-
- 6** Odebrání elučních zkumavek
- a. Otevřete dvířka přístroje.
 - b. Odeberte eluční zkumavky obsahující vyizolované nukleové kyseliny.
 - c. Vyizolované nukleové kyseliny jsou připraveny k okamžitému použití. Před prováděním následných analýz skladujte vyizolované nukleové kyseliny při teplotě 4 °C (krátkodobě, méně než 10 dní) nebo v alikvotách při -70 °C (dlouhodobě).
 - d. Zlikvidujte použité reagenční kazety, veškerý jednorázový plast do biohazardního odpadu. ***Reagenční kazety nepoužívejte opakovaně.**
 - e. Pokud nebudete přístroj nadále používat, vraťte stojánek na vzorky zpět do přístroje, zavřete dvířka přístroje a stiskněte funkční tlačítko  **“POWER”**, abyste uvedli přístroj do spánkového režimu. Pokud nebudete přístroj delší dobu používat, vypněte napájení
-

Skladování, kvantifikace a stanovení kvality DNA

Typickým následným využitím izolované DNA je kvalitativní nebo kvantitativní Real-Time PCR při detekci určitého patogenu nebo skupiny patogenů. Pro kontrolu izolačního procesu a dostatečné kvality vyizolované DNA se v kombinaci s komerčně dostupnými amplifikačními systémy do vzorku před izolací standardně přidává exogenní nukleová kyselina, tzv. interní kontrola. RNA nebo DNA interní kontroly by měly být přidány do lyzačního pufru, vždy dle pokynů výrobce soupravy. Interní kontrola je vhodná a rutinně používaná kontrola v testech pro detekci patogenů a kontroluje i kvalitu a celkovou přítomnost DNA v následné qPCR aplikaci.

Kvantifikace DNA

Koncentrace a čistota DNA by měla být stanovena měřením absorbance při 260 nm (A₂₆₀) respektive poměrem absorbancí A₂₆₀/A₂₈₀ ve spektrofotometru. Běžně používaný je např. NanoDrop (Thermo Scientific).

Skladování vyizolované DNA

Purifikovaná genomická DNA může být skladována při 2–8 °C, při –15 °C až –30 °C nebo –65 °C až –90 °C.

Řešení problémů

* Tato tabulka je užitečná při řešení běžných problémů. Pokud potřebujete další technickou podporu, kontaktujte distributora Biolife anebo výrobce Ecoli Dx (<https://ecolidx.com>).

Problem	Possible Cause	Comments and suggestions
Špatná kvalita DNA nebo výtěžek	Degradace nebo kontaminace reagensů	Před použitím se ujistěte, že reagensie soupravy jsou stále v platné době použití. Zlikvidujte všechny reagensie soupravy, které vykazují změnu barvy nebo známky mikrobiální kontaminace.
	Souprava byla skladována v nevhodných podmínkách	Soupravu skladujte vždy při teplotě 15-25 °C. Pokud se při přepravě v chladném počasí nebo při dlouhodobém skladování vysráží činidlo nebo pufr, sraženiny rozpusťte jemným zahřátím a mícháním roztoku. Nezamrazujte reagenční kazety.
	Nedostatečné množství vzorku	Výtěžek DNA závisí na typu vzorku a počtu jaderných buněk ve vzorku. Proporcionálně upravte celkové vstupní množství vzorku, abyste zvýšili výtěžek DNA.
	Bylo použito příliš mnoho elučního pufru	Eluční objem může být proporčně redukován.
	Eluát finálního produktu není dostatečný.	Shromážděte prosím informace o problému a co nejdříve je poskytněte svému zástupci / technické podpoře.
Problém s ucpáním	Bylo použito příliš mnoho vstupního materiálu vzorku.	Snižte vstupní množství materiálu vzorku nebo vzorek naředte.
Žádný výsledek v následné analýze	Žádný signál / Inhibice PCR	Pro analýzu používejte vhodné kontroly. Zkontrolujte pozitivní kontrolu, negativní kontrolu, vodu (NTC) a interní kontrolu, abyste objasnili možné příčiny problému.
Porucha přístroje / abnormální zvuk	Abnormální spotřební plast: 1. Deformita špičky s filtrem 2. Deformita reakční komůrky	Vyměňte prosím abnormální spotřební plast za normální.

	3. Deformita držáku špičky	
	<p>Abnormální činnost přístroje:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nepřesná korekce hodnot 2. Poškozený náhradní díl nebo součástka 	<p>Shromážděte prosím informace o problému (videa a obrázky) a co nejdříve je poskytněte zástupci / technické podpoře ke kalibraci nebo výměně jakýchkoli poškozených nebo opotřebovaných dílů.</p>

Související produkty

Pro kompletní nabídku kitů pro extrakci nukleových kyselin z jiného druhu výchozího materiálu kontaktujte výrobce Ecoli Dx nebo svého obchodního zástupce Biolife.

Jméno produktu	Katalogové číslo
ePure Blood DNA Extraction kit	E2001
ePure Blood DNA Extraction kit 1200	E2002
ePure Viral Nucleic Acid Extraction Kit	E2003
ePure Tissue DNA Extraction Kit	E2004
ePure Bacterial DNA Extraction Kit	E2006
ePure STD DNA Extraction Kit	E2007
ePure TB DNA Extraction Kit	E2008
ePure FFPE DNA Extraction Kit	E2009
ePure Forensic DNA Extraction Kit	E2010
ePure Pathogen NA Extraction Kit B	E2012
ePure Plant DNA Extraction Kit	E2014
ePure Total RNA Extraction Kit	E2015
ePure CFC DNA Extraction Kit	E2017
ePure cfDNA Extraction Kit Plus	E2024
ePure cfDNA Extraction Kit LV	E2025

Omezená záruka na produkt

Společnost Ecoli Dx se zavázala poskytovat zákazníkům vysoce kvalitní produkty a služby. Naším cílem je zajistit, aby každý zákazník byl 100% spokojen s našimi produkty a službami. Máte-li jakékoli dotazy nebo obavy, obraťte se na naše zástupce technické podpory.

Ecoli Dx zaručuje funkci všech produktů podle specifikací uvedených v naší literatuře k produktu. Kupující / uživatel musí určit vhodnost produktu pro jeho konkrétní použití.

Na produkty po vypršení doby expirace se neposkytuje žádná záruka. Záruka se nevztahuje na zboží, u kterého nejsou všechny komponenty skladovány a používány v souladu s pokyny.

Historie revizí

Verze	Datum	Popis
1.0	9. 2. 2022	Vytvoření dokumentu
1.1	22.5.2022	Doplněny údaje dle IVDR legislativy (Varování a bezpečnostní opatření, kvantifikace a stanovení kvality DNA)

