

MACHEREY-NAGEL

Manual de utilizare



ADN genomic din sânge

■ NucleoSpin® Dx Blood

CE

IVD

Dispozitiv medical pentru diagnostic *in vitro*

REF

740899.50,
740899.250



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
52355 Düren · Germania, Tel.: +49 24 21 969-0

Σ

50 / 250
preparări



Aprilie 2022/Rev. 05

Contact MN

Germany and international

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11 · 52355 Düren · Germany
Tel.: +49 24 21 969-0
Toll-free: 0800 26 16 000 (Germany only)
E-mail: info@mn-net.com

Technical Support Bioanalysis

Tel.: +49 24 21 969-333
E-mail: support@mn-net.com

USA

MACHEREY-NAGEL Inc.
924 Marcon Blvd. · Suite 102 · Allentown PA, 18109 · USA
Toll-free: 888 321 6224 (MACH)
E-mail: sales-us@mn-net.com

France

MACHEREY-NAGEL SAS
1, rue Gutenberg – BP135 · 67720 Hoerdt Cedex · France
Tel.: +33 388 68 22 68
E-mail: sales-fr@mn-net.com

MACHEREY-NAGEL SAS (Société par Actions Simplifiée) au capital de 186600 €
Siret 379 859 531 00020 · RCS Strasbourg B379859531 · N° intracommunautaire FR04 379 859 531

Switzerland



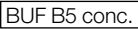





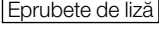
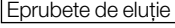

MACHEREY-NAGEL AG
Hirsackerstr. 7 · 4702 Oensingen · Switzerland
Tel.: +41 62 388 55 00
E-mail: sales-ch@mn-net.com

Cuprins

1 Componente	4
1.1 Conținutul kitului	4
1.2 Reactivi, consumabile și echipamente care trebuie furnizate de utilizator	5
1.3 Despre acest manual de utilizare	6
2 Descrierea produsului	7
2.1 Destinație de utilizare	7
2.2 Limitări ale utilizării produsului	7
2.3 Controlul calității	7
2.4 Introducere și specificațiile kitului	8
2.5 Performanța analitică	9
2.6 Proceduri de eluție	10
3 Condiții de depozitare și prepararea soluțiilor de lucru	11
4 Instrucțiuni privind siguranța	12
4.1 Eliminare	12
5 Purificarea ADN-ului genomic cu NucleoSpin® Dx Blood	13
5.1 Rezumatul protocolului	14
5.2 Procedură	15
6 Anexă	17
6.1 Remedierea defecțiunilor	17
6.2 Cerință privind notificarea	19
6.3 Literatură de specialitate generală	19
6.4 Informații pentru comandă	19
6.5 Explicarea simbolurilor	19
6.6 Restricții privind utilizarea produsului/garanție	20

1 Componente

1.1 Conținutul kitului

NucleoSpin® Dx Blood			
REF		50 preparări 740899.50	250 preparări 740899.250
Soluție tampon B3		15 mL	60 mL
Soluție tampon de spălare BW		30 mL	150 mL
Soluție tampon de spălare B5 (concentrat)*		12 mL	50 mL
Soluție tampon de eluție BE**		13 mL	60 mL
Soluție tampon de proteinază PB		1,8 mL	8 mL
Proteinază K (liofilizată)*		30 mg	2 x 75 mg
Coloane NucleoSpin® Dx Blood (inele roșii - plus eprubete de recoltare)		50	250
Eprubete de recoltare (2 mL)		3 x 50	3 x 250
Eprubete de liză (1,5 mL)		50	5 x 50
Eprubete de eluție (1,5 mL)		50	5 x 50
Manual de utilizare		1	1

* Pentru prepararea soluțiilor de lucru și condițiile de depozitare, consultați secțiunea 3.

** Compoziția soluției tampon de eluție BE: 5 mM Tris/HCl, pH 8,5

1.2 Reactivi, consumabile și echipamente care trebuie furnizate de utilizator

Reactivi

- Etanol 96 – 100 % (pentru ajustarea condițiilor de legare a ADN-ului și pentru prepararea soluției tampon de spălare B5)

Consumabile

- Vârfuri de pipetă de unică folosință (se recomandă vârfurile de pipetă cu barieră de aerosoli pentru a evita contaminarea încrucișată)

Echipamente

- Pipetoare manuale
- Centrifugă pentru eprubete de microcentrifugă
- Agitator vortex
- Bloc termic de încălzire sau baie de apă (pentru liza probelor la 70 °C)
- Echipament individual de protecție (de exemplu, halat de laborator, mănuși, ochelari de protecție)

1.3 Despre acest manual de utilizare

Se recomandă cu strictețe să citiți secțiunea detaliată a protocolului din acest manual de utilizare. Rezumatul protocolului este conceput doar pentru utilizarea ca instrument suplimentar de referință rapidă în timpul efectuării procedurii de purificare.

Manualele de utilizare MACHEREY-NAGEL sunt disponibile online la www.mn-net.com.

Vă rugăm să contactați Serviciul de asistență tehnică pentru informații cu privire la modificările din prezentul manual de utilizare față de versiunile anterioare.

Informații de contact

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciener Str. 11
52355 Duren, Germania
Tel.: +49 24 21 969-0
Telverde: 0800 26 16 000 (numai în Germania)
E-mail: info@mn-net.com

Asistență tehnică pentru bioanalitică

Tel.: +49 24 21 969-270
E-mail: tech-bio@mn-net.com

Benutzerhandbücher in weiteren Sprachen sind im Download-Bereich auf der Produktseite verfügbar.

Les manuels d'utilisation dans d'autres langues sont disponibles dans la section Telechargements de la page du produit.

Los manuales de usuario en otros idiomas estan disponibles en la seccion de descargas de la pagina del producto.



2 Descrierea produsului

2.1 Destinație de utilizare

NucleoSpin® Dx Blood este un kit pentru izolarea ADN-ului genomic din probe de sânge integral umane proaspete și congelate, stabilizate fie cu EDTA, fie cu citrat, fie cu heparină, obținute de pe sisteme obișnuite de recoltare a sângelui, pentru analiză *in vitro* ulterioară. Produsul furnizează ADN genomic purificat destinat utilizării pentru analiză ulterioară în aval precum PCR, qPCR sau secvențiere, pentru a obține informații despre ADN-ul genomic din probă. Produsul este destinat utilizării de către profesioniști în laboratoare de diagnostic.

Kitul **NucleoSpin® Dx Blood** nu este adecvat pentru autotestare sau testare în proximitatea pacientului. Utilizatorul trebuie să dețină experiență în ceea ce privește tehnicile de biologie moleculară, inclusiv experiență în ceea ce privește lucrul cu sânge integral și alte materiale obținute din probe umane potențial infecțioase.

Se recomandă utilizarea de controale adecvate, cum ar fi controale interne, controale de extracție, controale pozitive/negative.

2.2 Limitări ale utilizării produsului

Kitul **NucleoSpin® Dx Blood** nu este destinat utilizării cu probe de țesut sau scaun, fluide corporale acelulare, precum plasmă, ser, urină sau lichid cefalorahidian. Performanța kitului nu a fost evaluată cu strat trombo-leucocitar, culturi celulare sau celule izolate, exsudate, pete de sânge uscat și ADN viral. De asemenea, kitul nu este specificat pentru izolarea și purificarea acizilor nucleici bacterieni, fungici sau parazitari.

2.3 Controlul calității

În conformitate cu sistemul de management al calității al MACHEREY-NAGEL, fiecare lot de kit **NucleoSpin® Dx Blood** este testat pentru specificațiile prestabilite pentru a asigura o calitate constantă a produsului.

2.4 Introducere și specificațiile kitului

NucleoSpin® Dx Blood se bazează pe o tehnologie consacrată cu membrană de silice NucleoSpin® și oferă o modalitate facilă de izolare a ADN-ului genomic din 200 µL de probe de sânge integral. ADN-ul purificat este gata de utilizare pentru amplificare PCR în aval.

Procedura **NucleoSpin® Dx Blood** se bazează pe o serie de pași simpli:

Mai întâi, probele de sânge sunt lizate în prezența sărurilor caotropice și a proteinazei K. ADN-ul genomic din lizat este apoi legat de o coloană **NucleoSpin® Dx Blood**. Ulterior, membrana cu acizi nucleici legați este spălată și, în cele din urmă, ADN-ul genomic de înaltă puritate este eluat.

Probe

Kitul poate fi utilizat cu 200 µL de sânge integral uman proaspăt sau congelat, tratat cu EDTA, citrat sau heparină, obținut din sisteme obișnuite de recoltare a sângelui.

De obicei, 200 µL de sânge integral uman vor produce 3–5 µg de ADN genomic în funcție de numărul de leucocite din probă.

În continuare este prezentată o selecție de dispozitive adecvate de recoltare a sângelui:

Tabelul 1: Selecție de dispozitive adecvate de recoltare a sângelui

Sistem de recoltare a sângelui	Producător
S-Monovette® Li-Heparin	Sarstedt
S-Monovette® EDTA	Sarstedt
S-Monovette® Citrat	Sarstedt
VACUETTE® EDTA	GREINER BIO-ONE
BD VACUTAINER® K2E	BD
K3 EDTA	DELTA LAB
K2 EDTA	APTACA

Limitări ale probelor

Crioprecipitatele formate în timpul decongelării probelor congelate pot colmata coloana **NucleoSpin® Dx Blood**. Dacă sunt vizibile astfel de precipitate, evitați aspirarea acestora atunci când încărcați lizatul în coloana de legare.

Evident, probele hemolitice și hiperlipidemice pot afecta producția și puritatea ADN-ului.

Tabelul 2: Rezumatul specificațiilor kitului

Parametru	NucleoSpin® Dx Blood
Materialul probelor	Sânge integral uman proaspăt și congelat tratat cu EDTA, citrat sau heparină, obținut din sisteme obișnuite de recoltare a sângelui
Volumul probelor	200 µL
Producție tipică de ADN	3–5 µg în funcție de numărul de leucocite
Calitate tipică a ADN-ului	Raport A_{260}/A_{280} 1,7–1,9 Raport A_{260}/A_{230} 1,8–2,3
Volum de eluție	50–200 µL
Concentrație tipică a ADN-ului	40–60 ng/µL
Procesare	Centrifugare

2.5 Performanța analitică

Repetabilitatea în cadrul aceleiași determinări a fost calculată pe baza izolării paralele a 12 părți alicote identice de probe de sânge. Producția medie de ADN a fost de $5,2 \mu\text{g} \pm 0,3$, corespunzând unui CV de 6 %. Repetabilitatea între determinări a fost testată în cadrul a două determinări independente. În cadrul fiecărei determinări, ADN-ul a fost izolat dintr-o probă de sânge cu câte 6 replici. Diferența dintre producțiile medii ale celor două determinări a fost de $0,2 \mu\text{g}$ de ADN, corespunzând unui CV de 6 %. Pentru repetabilitatea de la un lot la altul, au fost comparate alături de trei loturi de NucleoSpin Dx Blood. Pentru fiecare lot a fost izolat ADN_g în 6 replici. Toate replicile au fost extrase dintr-o singură probă de sânge. Producțiile medii de ADN per șase preparate au fost de 5,2, 4,8 și 5,0 µg, cu abateri standard de 0,4, 0,5 și, respectiv, 0,5 µg. CV-ul producțiilor medii ale celor trei loturi a fost de 4 %.

Pentru evaluarea reproductibilității, ADN-ul a fost izolat din probe de sânge integral în paralel de doi operatori. Producția medie ($n = 6$) a fost de $2,9 \pm 0,3 \mu\text{g}$ și, respectiv, $3,0 \pm 0,2 \mu\text{g}$, corespunzând unui CV de 9 % și 7 % per șase preparate. Diferența dintre producțiile medii ale ambilor operatori a fost de 0,1 µg.

Utilizarea pentru diagnostic *in vitro* a **NucleoSpin® Dx Blood** este exemplificată în următoarele publicații:

Hadzsiev, K. *et al.* (2019) Rubinstein-Taybi syndrome 2 with cerebellar abnormality and neural tube defect. (Sindromul Rubinstein-Taybi 2 cu anomalie cerebelară și defect de tub neural.) Clin Dismorphol., 28(3), 137–141.

Komlósi, K. *et al.* (2015) Phenotypic variability in a Hungarian patient with the 4q21 microdeletion syndrome. [(2015) Variabilitatea fenotipică în cazul unui pacient din Ungaria cu sindromul microdeleției 4q21.] Mol Cytogenet., 8, 16.

Czakó, M. *et al.* (2019) Possible Phenotypic Consequences of Structural Differences in Idic(15) in a Small Cohort of Patients. [(2019) Consecințe fenotipice posibile ale diferențelor structurale la nivelul cromozomului izodicentric 15 la o cohortă mică de pacienți.] Int J Mol Sci., 20(19), 4935.

Szabo, A. *et al.* (2015) Partial tetrasomy of the proximal long arm of chromosome 15 in two patients: the significance of the gene dosage in terms of phenotype. [(2015) Tetrasomia parțială a brațului lung proximal al cromozomului 15 în cazul a doi pacienți: importanța dozării genelor din punct de vedere al fenotipului] *Mol Cytogenet.*, 8, 41.

2.6 Proceduri de eluție

ADN-ul este eluat din **coloanele NucleoSpin® Dx Blood** cu 50–200 μL de soluție tampon de eluție BE. Producția generală de ADN crește odată cu creșterea volumului de eluție, în timp ce concentrația de ADN scade (consultați figura 1).

De obicei, poate fi utilizată o cantitate de eluat de până la 10 μL ca model într-un amestec pentru PCR de 50 μL fără să afecteze performanța testului PCR. Se recomandă depozitarea ADN-ului eluat la temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Mai multe cicluri de congelare-decongelare nu vor afecta majoritatea aplicațiilor în aval.

Depozitarea acizilor nucleici

Recomandare:

Depozitare pe termen scurt (până la 24 de ore): $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$

Depozitare pe termen lung (peste 24 de ore): $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$

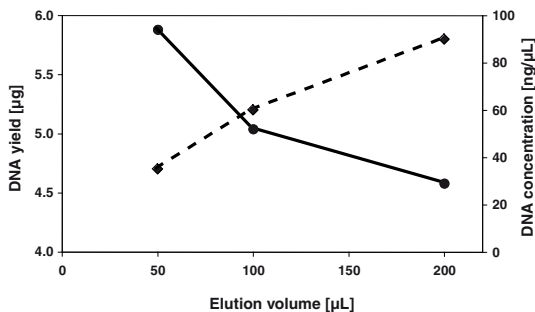


Figura 1

Impactul volumului de eluție asupra producției generale de ADN (linie întreruptă) și a concentrației de ADN (linie continuă). Eluția a fost efectuată cu 50, 100 și 200 μL .

3 Condiții de depozitare și prepararea soluțiilor de lucru

Atenție:

- După primirea kitului, verificați toate componentele pentru a vedea dacă sunt intacte. În cazul în care conținutul kitului, precum flacoanele de soluție tampon sau ambalajele blister, prezintă deteriorări, contactați Serviciul de asistență tehnică și de relații cu clienții al MACHEREY-NAGEL sau adresați-vă distribuitorului local.
- Nu folosiți componente ale kitului care sunt deteriorate.
- La momentul sosirii, kitul **NucleoSpin® Dx Blood** trebuie păstrat la temperaturi de 18–25 °C. NU este necesar să deschideți kitul la momentul livrării și să scoateți componentele individuale pentru a le depozita separat.
- **Coloanele NucleoSpin® Dx Blood** pot fi utilizate până la data expirării specificată pe cutia kitului.

Înainte de inițierea protocolului **NucleoSpin® Dx Blood**, preparați următoarele:

- **Soluție tampon de spălare B5:** Adăugați volumul indicat de etanol (96–100 %, a se vedea tabelul de mai jos sau eticheta flaconului) la **concentratul de soluție tampon de spălare B5**. Marcați eticheta flaconului pentru a indica faptul că s-a adăugat etanol. Păstrați soluția tampon de spălare B5 la temperaturi de 18–25 °C până la data expirării.
- **Proteinaza K** liofilizată poate fi păstrată la temperaturi de 18–25 °C până la data expirării, fără o diminuare a performanței. Înainte de prima utilizare a kitului, adăugați volumul indicat de **soluție tampon de proteinază PB** pentru a dizolva proteinaza K liofilizată. Proteinaza K reconstituită trebuie păstrată la temperatura de -20 °C timp de până la 6 luni, dar numai până la data de expirare.
- În timpul depozitării, în special la temperaturi scăzute, se poate forma un precipitat alb în soluția tampon B3 și în soluția tampon BW. Astfel de precipitate pot fi dizolvate cu ușurință incubând flaconul la temperatura de 70 °C timp de 5 min. înainte de utilizare.

NucleoSpin® Dx Blood

REF	50 preparări 740899.50	250 preparări 740899.250
Soluție tampon de spălare B5 (concentrat)	12 mL Adăugați 48 mL de etanol.	50 mL Adăugați 200 mL de etanol.
Proteinază K	30 mg Adăugați 1,35 mL de soluție tampon de proteinază.	2 x 75 mg Adăugați 3,35 mL de soluție tampon de proteinază în fiecare flacon.

4 Instrucțiuni privind siguranța

Când lucrați cu kitul **NucleoSpin® Dx Blood**, purtați îmbrăcăminte de protecție adecvată (de exemplu, halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție). Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de securitate ale materialelor corespunzătoare (FDSM disponibile online la <http://www.mn-net.com/msds>).



Atenție: Clorhidratul de guanidină din soluția tampon B3 și din soluția tampon BW poate forma compuși foarte reactivi atunci când este combinat cu înălbitori! De aceea, nu adăugați înălbitor sau soluții acide direct în reziduurile provenite din prepararea probelor.

Reziduurile generate de kitul **NucleoSpin® Dx Blood** nu au fost testate pentru materiale infecțioase reziduale. Contaminarea reziduurilor lichide cu materiale infecțioase reziduale este foarte puțin probabilă, datorită soluției tampon de liză puternic denaturant și a tratamentului cu proteinază K, dar nu poate fi exclusă complet. De aceea, reziduurile lichide trebuie considerate infecțioase și trebuie manipulate și eliminate în conformitate cu reglementările locale privind siguranța.

4.1 Eliminare

Eliminați materialele periculoase, infecțioase sau contaminate biologic într-un mod sigur și acceptabil și în conformitate cu toate cerințele locale și de reglementare.

5 Purificarea ADN-ului genomic cu NucleoSpin® Dx Blood

Procedura de mai jos oferă instrucțiuni pentru procesarea unei singure probe de sânge. Cu toate acestea, pot fi procesate mai multe probe în același timp; numărul acestora depinde de capacitatea microcentrifugei utilizate.










Înainte de începerea preparării:

- Verificați dacă soluția tampon B5 și proteinaza K au fost preparate conform secțiunii 3.
- Verificați dacă este disponibil etanol de 96 – 100 % (denaturat sau nedenaturat) pentru a ajusta condițiile de legare a ADN-ului.
- Setează un incubator (de exemplu, un bloc de încălzire) sau o baie de apă la temperatura de 70 °C.
- Echilibrați probele de sânge la temperatura camerei. Asigurați-vă că probele sunt bine omogenizate.
- Dacă s-a format precipitat în soluția tampon de liză B3 sau soluția tampon BW, incubați soluția tampon la temperatura de 70 °C până la dizolvarea precipitatului.
- În general, nu amestecați reactivi și coloane din kituri și loturi diferite.
- Echilibrați soluția tampon de eluție BE la temperatura camerei.
- Nu adăugați soluția de proteinază K direct în soluția tampon de liză B3. Proteinaza K trebuie amestecată cu proba de sânge înainte de adăugarea soluției tampon B3.
- Toate etapele de centrifugare trebuie efectuate la temperatura camerei.

5.1 Rezumatul protocolului

Prezentare generală suplimentară a protocolului:

Citiți cu atenție protocolul detaliat (secțiunea 5.2) înainte de începerea procedurii.

Lizarea probelor de sânge	1	25 µL de proteinază K		
	2	200 µL de sânge		
	3	200 µL de B3, omogenizare		
	4	RT, 5 min.		
	5	70 °C, 10 min., omogenizare		
	6	2.000 x g, 1 s		
Ajustarea condițiilor de legare a ADN-ului	7	210 µL de etanol, omogenizare		
	8	2.000 x g, 1 s		
Legarea ADN-ului	9	Încărcați lizatul.		
	10	11.000 x g, 1 min.		
	11	Transferați coloana NucleoSpin® Dx Blood într-o nouă eprubetă de recoltare.		
Spălarea membranei de silice	12	500 µL de BW		
	13	11.000 x g, 1 min.		
	14	Transferați coloana NucleoSpin® Dx Blood într-o nouă eprubetă de recoltare.		
	15	600 µL de B5		
	16	11.000 x g, 1 min.		
Uscarea membranei de silice	17	Transferați coloana NucleoSpin® Dx Blood într-o nouă eprubetă de recoltare.		
	18	11.000 x g, 1 min.		

Eluarea ADN-ului	19	Transferați coloana NucleoSpin® Dx Blood într-o eprubetă de eluție.
	20	50–200 µL de BE
	21	11.000 x g, 1 min.



5.2 Procedură

- 1** Pipetați **25 µL de soluție de proteinază K** într-o eprubetă de liză (1,5 mL, furnizată).
- 2** Adăugați **200 µL de probă de sânge** în eprubeta de liză. Omogenizați.
- 3** Adăugați **200 µL de soluție tampon B3** în eprubeta de liză, închideți capacul și omogenizați energic în vortex cu impuls timp de 10 s.
Nu preamestecați soluția tampon B3 și proteinaza K!
- 4** Incubați la **temperatura camerei** timp de **5 min.** (± 1 min).
- 5** Incubați eprubeta de liză la **70 °C** (± 2 °C) timp de **10 min.** (± 1 min.). După incubare, omogenizați energic în **vortex** cu impuls timp de 5 s.
- 6** **Centrifugați scurt** eprubeta de liză (aprox. 1 s la 2.000 x g) pentru a elimina picăturile de pe capac (doar o rotație scurtă).
- 7** Adăugați **210 µL de etanol** (96–100 %) în probă. Închideți capacul și omogenizați în vortex cu impuls timp de 5 s.
Asigurați-vă că etanolul și lizatul s-au omogenizat bine.
- 8** **Centrifugați scurt** eprubeta de liză (aprox. 1 s la 2.000 x g) pentru a elimina picăturile de pe capac (doar o rotație scurtă).
- 9** **Încărcați întregul lizat** cu atenție în **coloana NucleoSpin® Dx Blood** amplasată într-o eprubetă de recoltare și închideți capacul.
- 10** **Centrifugați 1 min. la 11.000 x g.**
Dacă lizatul nu este extras complet prin membrană, repetați centrifugarea la o forță g mai mare (15.000–20.800 x g timp de 1 min.). Dacă lizatul nu trece încă prin membrană complet, eliminați proba și repetați izolarea cu un nou material recoltat.
- 11** Amplasați **coloana NucleoSpin® Dx Blood** într-o nouă eprubetă de recoltare (2 mL, furnizată) și eliminați eprubeta de recoltare cu flux continuu din etapa anterioară.
- 12** Deschideți **coloana NucleoSpin® Dx Blood** și adăugați **500 µL de soluție tampon BW** în coloană. Închideți capacul.
Notă: Asigurați-vă că lizatul rezidual este îndepărtat prin spălare cu soluție tampon BW.
- 13** **Centrifugați 1 min. la 11.000 x g.**

14 Amplasați **coloana NucleoSpin® Dx Blood** într-o nouă eprubetă de recoltare (2 mL, furnizată) și eliminați eprubeta de recoltare cu flux continuu din etapa anterioară.

15 Deschideți **coloana NucleoSpin® Dx Blood** și adăugați **600 µL de soluție tampon B5** în coloană. Închideți capacul.

Notă: Asigurați-vă că soluția tampon de spălare reziduală din etapa anterioară este îndepărtată prin spălare cu soluție tampon B5.

16 Centrifugați 1 min. la 11.000 x g.

17 Amplasați coloana **NucleoSpin® Dx Blood** într-o nouă eprubetă de recoltare (2 mL, furnizată) și eliminați eprubeta de recoltare cu flux continuu din etapa anterioară.

18 Centrifugați 1 min. la 11.000 x g.

Etanolul rezidual este îndepărtat în timpul acestei etape.

19 Amplasați **coloana NucleoSpin® Dx Blood** într-o eprubetă de eluție curată (1,5 mL, furnizată) și eliminați eprubeta de recoltare din etapa anterioară.

20 Deschideți **coloana NucleoSpin® Dx Blood** și **adăugați 50–200 µL de soluție tampon BE** direct în centrul membranei.

21 Centrifugați 1 min. la 11.000 x g pentru a elua ADN-ul din coloană.

6 Anexă

6.1 Remedierea defecțiunilor

Problemă	Posibilă cauză și sugestii
Lipsă producție de ADN sau producție scăzută de ADN	<i>Concentrație scăzută de leucocite în probă</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • Producția de ADN depinde de numărul de leucocite din fiecare probă. Probele de sânge cu un număr scăzut de leucocite produc cantități mici de ADN.
	<i>Liză incompletă a probelor</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • Probă de sânge neomogenă sau cheaguri de sânge în probă: Asigurați-vă că probele de sânge sunt recoltate respectând instrucțiunile producătorului eprubetei de recoltare a sângelui. Asigurați-vă că doar sânge care poate fi transferat cu ușurință prin pipetare este utilizat ca material pentru probe. Dacă este necesar, omogenizați proba de sânge înainte de utilizare. • Probă neamestecată bine cu proteinaza K și soluția tampon de liză. Amestecul trebuie agitat energic în vortex imediat după adăugarea soluției tampon de liză B3. • Digestia proteinazei K nu este optimă. Nu adăugați niciodată proteinază K direct în soluția tampon de liză B3.
	<i>Reactivi neaplicați corespunzător</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • Preparați soluțiile tampon și soluția de proteinază K conform instrucțiunilor (secțiunea 3). Adăugați etanol în lizat înainte de a încărca lizatul în coloană.
Coloană de legare a ADN-ului colmatată	<i>Centrifugare inadecvată</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • Nu prelungiți timpul și viteza de centrifugare în etapele 6 și 8. Folosiți doar o rotație scurtă pentru a elimina picăturile de pe capac.
	<i>Eluție suboptimă a ADN-ului din coloană</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • Eficiența eluției depinde de volumul soluției tampon de eluție. Pentru o eficiență maximă a eluției, utilizați 200 µL de soluție tampon de eluție; pentru o concentrație maximă de ADN, utilizați 50 µL de soluție tampon de eluție.
	<i>Probă de sânge neomogenă</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • Crioprecipitatul format în timpul decongelării probelor congelate poate colmata coloana NucleoSpin® Dx Blood. Dacă sunt vizibile astfel de precipitate, evitați aspirarea acestora atunci când încărcați lizatul în coloana de legare. De asemenea, se pot forma precipitate și în probe de sânge proaspete. Asigurați-vă că probele sunt bine omogenizate. În cazul în care coloana se colmatează în timpul etapei de legare a ADN-ului, repetați centrifugarea la o forță g mai mare (15.000–20.800 x g timp de 1 min.).

Problemă **Posibilă cauză și sugestii**

Reactivi neaplicați corespunzător

- Preparați soluțiile tampon și soluția de proteinază K conform instrucțiunilor (secțiunea 3). Adăugați etanol în lizat și amestecați înainte de a le încălca în coloane.

Liză incompletă a probelor

Calitate slabă
a ADN-ului

- Probă neamestecată bine cu soluția de proteinază K și soluția tampon de liză. Amestecul trebuie agitat energic în vortex imediat după adăugarea soluției tampon de liză.
- Digestia proteinazei K nu este optimă. Nu adăugați proteinază K direct în soluția tampon de liză B3.

Probe de sânge vechi sau coagulat procesate

- Asigurați-vă că se utilizează ca material pentru probe doar sânge care poate fi transferat cu ușurință prin pipetare. Dacă este necesar omogenizați proba de sânge înainte de utilizare.
-

Transferare a etanolului

Performanță
suboptimă
a ADN-ului
genomic
în reacții
enzimatice

- Asigurați-vă că eliminați în întregime soluția tampon B5 etanolică înainte de eluarea ADN-ului. Dacă nivelul de umplere al eprubetei cu flux continuu cu soluție tampon de spălare B5 după cea de-a doua spălare ajunge la orificiul de ieșire al coloanei din orice motiv, eliminați eprubeta cu flux continuu, amplasați coloana înapoi în eprubeta de recoltare și centrifugați din nou.
- Eluatele de ADN pot conține urme de etanol. Cu toate acestea, nu a fost observată nicio diminuare a performanței PCR utilizându-se o cantitate de eluat de ADN de până la 20 % din volumul final pentru PCR ca model (de exemplu, utilizându-se 4 μL din 100 μL de eluat ca model în 20 μL pentru PCR). Procentul maxim de volum model în cadrul unui test PCR poate varia în funcție de robustețea sistemului PCR și trebuie stabilit de utilizator.

Contaminare a ADN-ului cu substanțe inhibitoare

- Dacă preparați ADN din probe de sânge vechi sau coagulat, asigurați-vă că se utilizează ca material pentru probe doar sânge care poate fi transferat cu ușurință prin pipetare. Dacă este necesar, omogenizați proba de sânge înainte de utilizare.
-

Vă rugăm să contactați:

MACHEREY-NAGEL Germania
Tel.: +49 (0) 24 21 969 270
E-mail: TECH-BIO@mn-net.com

6.2 Cerință privind notificarea

Vă rugăm să rețineți că orice incident grav care a avut loc în legătură cu produsul trebuie raportat imediat producătorului și autorității competente din statul membru european în care s-a produs incidentul. Punctele europene de contact pentru vigență: https://ec.europa.eu/health/md_sector/contact_en

6.3 Literatură de specialitate generală

Thiemann F. *et al.* (2006) Leitfaden Molekulare Diagnostik - Grundlagen, Gesetze, Tipps und Tricks, WILEY-VCH, ISBN 3-527-31471 – 7.

Orzińska A. *et al.* (2015) 14 Years of Polish Experience in Non-Invasive Prenatal Blood Group Diagnosis. [(2015) 14 ani de experiență în diagnosticarea non-invazivă a grupelor sanguine prenatale în Polonia.] *Transfus Med Hemother*, 42, 361 – 364.

Papadopoulou A. *et al.* (2014) Calcium sensing receptor in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus. [(2014) Receptorul de detectare a calciului în sarcini complicate de diabetul zaharat gestațional.] *Placenta*, 35, 632e638.











Bleda S. *et al.* (2012) Vascular endothelial growth factor polymorphisms are involved in the late vascular complications in Type II diabetic patients. [(2012) Polimorfismele factorului de creștere endotelial vascular sunt implicate în complicațiile vasculare tardive ale pacienților cu diabet zaharat de tip 2.] *Diabetes & Vascular Disease Research*, 9(1), 68 – 74.

6.4 Informații pentru comandă

Produs	REF	Nr. buc.
NucleoSpin® Dx Blood	740899.50/.250	50/250
NucleoSpin® Dx Virus	740895.50	50
NucleoMag® Dx Pathogen	744215.4	384

Vizitați www.mn-net.com pentru informații mai detaliate despre produse.

6.5 Explicarea simbolurilor

 REF	Număr articol		Suficient pentru < n > teste
 LOT	Identificare lot		Interval de temperatură permis pentru depozitare
	Producător		Data limită de utilizare
 IVD	Produse pentru diagnostic <i>in vitro</i>		Atenție: Informații suplimentare în manualul de utilizare
	Vă rugăm să citiți instrucțiunile de utilizare.		A nu se reutiliza

6.6 Restricții privind utilizarea produsului/garanție

Kitul **NucleoSpin® Dx Blood** este un sistem generic pentru izolarea și purificarea ADN-ului genomic din probe de sânge integral umane în scopuri de diagnostic *in vitro* ulterior.

Kitul este conceput pentru a fi utilizat cu orice aplicații în aval care folosesc amplificarea și detectarea enzimatică a ADN-ului (de exemplu, PCR). Oricare și toate rezultatele de diagnostic generate cu ajutorul ADN-ului izolat cu kitul **NucleoSpin® Dx Blood** împreună cu un test de diagnostic trebuie interpretate în contextul rezultatelor clinice sau de laborator suplimentare. Kitul **NucleoSpin® Dx Blood** nu oferă un rezultat de diagnostic. Utilizatorului îi revine responsabilitatea exclusivă de a utiliza și valida kitul împreună cu un test de diagnostic *in vitro* în aval. DOAR produsele MACHEREY-NAGEL etichetate special ca DIV sunt adecvate pentru utilizare în scop diagnostic *in vitro*.

Pentru instrucțiuni privind siguranța, vă rugăm să consultați capitolul respectiv din manualul de utilizare. Kitul **NucleoSpin® Dx Blood** trebuie utilizat exclusiv într-un mediu de testare adecvat, respectiv, într-un mediu de laborator corespunzător.

Utilizatorul respectiv este răspunzător pentru oricare și toate daunele rezultate din aplicarea kitului **NucleoSpin® Dx Blood** în scopuri care se abat de la destinația de utilizare prevăzută în manualul de utilizare.

Acest produs MACHEREY-NAGEL este livrat cu o documentație care conține specificații și alte informații tehnice. MACHEREY-NAGEL garantează respectarea specificațiilor declarate. Unica obligație a MACHEREY-NAGEL și unica măsură reparatorie a clientului se limitează la înlocuirea gratuită a produselor în cazul în care produsele nu funcționează conform garanției. Se face o referire suplimentară la clauzele și condițiile generale de afaceri ale MACHEREY-NAGEL, care sunt tipărite pe lista de prețuri. Vă rugăm să ne contactați dacă doriți să obțineți un exemplar suplimentar.

Nu există nicio garanție pentru și MACHEREY-NAGEL nu este răspunzătoare pentru daunele sau defectele apărute în timpul transportului și manipularii (se exclude asigurarea de transport pentru clienți) sau în urma unui accident sau a utilizării necorespunzătoare sau anormale a acestui produs; defectele produselor sau componentelor care nu sunt fabricate de MACHEREY-NAGEL sau daunele rezultate din astfel de componente sau produse care nu sunt fabricate de MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL nu oferă nicio altă garanție de niciun tip și RENUNȚĂ LA ȘI EXCLUDE ÎN MOD EXPRES TOATE GARANȚIILE DE ORICE TIP SAU NATURĂ, DIRECTE SAU INDIRECTE, EXPRESE SAU IMPLICITE, INCLUZÂND, FĂRĂ LIMITARE, LEGATE DE ADECVAREA, REPRODUCTIBILITATEA, DURABILITATEA, CONFORMITATEA CU UN SCOP SAU O UTILIZARE ANUME, VANDABILITATEA, STAREA SAU ORICE ALT ASPECT CU PRIVIRE LA PRODUSELE MACHEREY-NAGEL.

MACHEREY-NAGEL nu va fi răspunzătoare în nicio situație pentru pretențiile privind orice alte daune, directe, indirecte, accesorii, compensatorii, previzibile, colaterale sau speciale (incluzând, fără limitare, pierderea utilizării, a veniturilor sau a profitului), indiferent dacă se bazează pe garanție, contract, delict (inclusiv neglijență) sau răspundere strictă, care survin în legătură cu vânzarea sau nefuncționarea produselor MACHEREY-NAGEL în conformitate cu specificațiile declarate. Această garanție este exclusivă, iar MACHEREY-NAGEL nu oferă nicio altă garanție expresă sau implicată.

Garanția oferită în prezentul document și datele, specificațiile și descrierile acestui produs MACHEREY-NAGEL care apar în cataloagele publicate de MACHEREY-NAGEL și în documentația produsului sunt singurele declarații ale MACHEREY-NAGEL cu privire la produs și

garanție. Nu sunt autorizate alte declarații sau mențiuni, scrise sau verbale, din partea angajaților, agenților sau reprezentanților MACHEREY-NAGEL, cu excepția declarațiilor scrise semnate de un oficial autorizat în mod corespunzător al MACHEREY-NAGEL; acestea nu trebuie luate în considerare de către client și nu fac parte din contractul de vânzare sau din prezenta garanție.

Specificațiile produsului pot suferi modificări. De aceea, vă rugăm să contactați echipa noastră de asistență tehnică pentru cele mai recente informații despre produsele MACHEREY-NAGEL. De asemenea, vă puteți adresa distribuitorului local pentru informații științifice generale. Aplicațiile menționate în literatura de specialitate MACHEREY-NAGEL sunt indicate doar în scop informativ. MACHEREY-NAGEL nu garantează că toate aplicațiile au fost testate în laboratoarele MACHEREY-NAGEL utilizându-se produse MACHEREY-NAGEL. MACHEREY-NAGEL nu garantează corectitudinea oricăror din aceste aplicații.

Ultima actualizare: Aprilie 2022/Rev. 05

Motivul revizuirii:

Adăugarea datelor privind performanța analitică și clinică la capitolul 2.5. Referire la noile formulări ale manualului de utilizare (capitolul 1.3).

Mărci înregistrate:

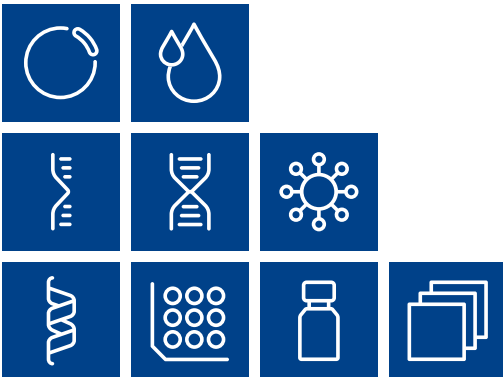
BD VACUETTE este o marcă înregistrată a BD.

NucleoSpin este o marcă înregistrată a MACHEREY-NAGEL GmbH & Co KG.

S-Monovette este o marcă înregistrată a Sarstedt.

Vacurette este o marcă înregistrată a GREINER BIO-ONE.

Toate denumirile și desemnările utilizate pot fi mărci, mărci comerciale sau etichete înregistrate ale deținătorilor respectivi – chiar dacă acest lucru nu este indicat în mod expres. Menționarea produselor și a mărcilor are un scop strict informativ (cu alte cuvinte, nu aduce atingere mărcilor comerciale și mărcilor înregistrate și nu poate fi considerată drept o recomandare sau o evaluare). Referitor la aceste produse sau servicii, nu putem oferi garanții privind selecția, eficacitatea sau funcționarea.



Plasmid DNA

Clean up

RNA

DNA

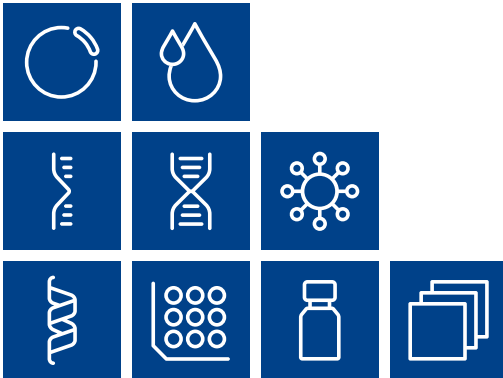
Viral RNA and DNA

Protein

High throughput

Accessories

Auxiliary tools



www.mn-net.com

MACHEREY-NAGEL



MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG
Valenciennener Str. 11
52355 Düren · Germany

DE	Tel.: +49 24 21 969-0	info@mn-net.com
CH	Tel.: +41 62 388 55 00	sales-ch@mn-net.com
FR	Tel.: +33 388 68 22 68	sales-fr@mn-net.com
US	Tel.: +1 888 321 62 24	sales-us@mn-net.com