

LW Color Compensation Kit

Uživatelská příručka

04 847 148 001

Pro všeobecné použití v laboratoři

affigene



Obsah

1	Úvodní informace pro LW Color Compensation Kit	5
2	Požadovaný materiál	6
2.1	Složení reagenční soupravy	6
2.2	Potřebný materiál, který není součástí soupravy	7
3	Upozornění a bezpečnostní zásady	8
4	Pracovní postup	10
5	Přístroj LightCycler® 2.0	12
5.1	Úvodní informace o přístroji LightCycler® 2.0	12
5.2	Příprava přístroje LightCycler® 2.0	12
5.2.1	Dříve než začnete	12
5.2.2	Spuštění analýzy na přístroji LightCycler® 2.0	13
5.2.3	Analýza dat v softwaru LightCycler® verze 4.05 nebo vyšší.	14

1 Úvodní informace pro LW Color Compensation Kit

Co je LW Color Compensation Kit

LW Color Compensation Kit je určen k vytváření objektů pro barevnou kompenzaci. To je nezbytnou podmínkou pro provádění vícebarevných experimentů na přístroji LightCycler® 2.0. Vytvořený barevný kompenzační objekt může být použit se soupravami LightCycler® CMV Quant Kit, LightCycler® EBV Quant Kit, LightCycler® VZV Qual Kit a LightCycler® HSV 1/2 Qual Kit na tomto konkrétním přístroji LightCycler® 2.0 ke kompenzaci surových fluorescenčních dat.

Poznámka: Barevná kompenzace je specifická pro každý přístroj. Proto je nutné vytvořit barevný kompenzační objekt pro každý přístroj LightCycler® 2.0. Dále je třeba provádět novou kalibraci každých šest měsíců. Kromě toho je nutné vytvořit nový barevný kompenzační objekt po aktualizaci softwaru nebo po opravě optického systému.

Co je součástí této soupravy?

LW Color Compensation Kit obsahuje všechny potřebné reagenty pro vytvoření barevných kompenzačních objektů specifické pro všechny přístroje.

Tato uživatelská příručka

Tento uživatelský návod popisuje celý postup vytváření barevného kompenzačního objektu.

Určení soupravy

LW Color Compensation Kit se používá pro nápravu spektrálního překryvu u vícebarevných aplikací při analýze za využití detekčních kanálů 530, 560 a 610. Během kalibrace proměří přístroj LightCycler® 2.0 fluorescenci pro každé barvivo ve všech kanálech a vytvoří barevný kompenzační objekt specifický pro daný přístroj. Později software automaticky tento barevný kompenzační objekt použije pro přiřazení fluorescence v každém kanálu odpovídajícímu barvivo. Čistý výsledek představuje detekce pouze jednoho signálu barviva v každém kanálu.

2 Požadovaný materiál

2.1 Složení reagenční soupravy

Obsah a uspořádání soupravy

Sada je určena pro provedení 5 kalibrací. Zmražení a rozmražení mezi analýzami je přípustné.

Reference: 4 Pracovní tok

Obsah produktu LW Color Compensation Kit (kontrolní sada)

Tato tabulka specifikuje obsah sady LW Color Compensation Kit.

Table 2.1 Obsah produktu LW Color Compensation Kit (kontrolní sada)

Položka	Popis	Celkový počet zkumavek v sadě LW Color Compensation Kit
Blank	<ul style="list-style-type: none"> 100 µl pufr bez fluoroforů pro určení standardní fluorescence tlumícího roztoku 	1
Calibrator FAM	<ul style="list-style-type: none"> 100 µl standardí oligonukleotid, FAM označený na konci 5'. Určení překryvu FAM do jiných kanálů. 	1
Calibrator JOE	<ul style="list-style-type: none"> 100 µl standardní oligonukleotid, označený JOE na konci 5'. Určení překryvu JOE do jiných kanálů. 	1
Calibrator ROX	<ul style="list-style-type: none"> 100 µl standardní oligonukleotid, označený ROX na konci 5'. Určení překryvu ROX do jiných kanálů. 	1

Podmínky skladování

LW Color Compensation Kit je stabilní při teplotách -15 až -25 °C až do doby expirace vytištěné na štítku.

2.2

Potřebný materiál, který není součástí soupravy

Položky, které nejsou obsaženy v této soupravě

Následující položky nejsou součástí soupravy, ale jsou nutné pro provedení analýzy:

- Příklad: Přístroj LightCycler® 2.0 (kat. č. 03 531 414 201; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo) s výrobním číslem 1415001 a vyšším se softwarem verze 4.05 (build 415) nebo vyšší.
Poznámka: Přístroje s nižším výrobním číslem by měly být nejprve schváleny pro použití s IVD se speciální aktualizací. Kontaktujte svou místní zákaznickou podporu, potřebujete-li informace o postupu aktualizace.
 - LC Carousel Centrifuge 2.0 (kat. č. 03 709 582 001; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo).
 - Spotřební materiál pro přístroj LightCycler® 2.0 LightCycler® Kapiláry (20 µl) (kat. č. 11 909 339 001; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo).
 - LW Color Compensation Kit Macro CD-ROM (kat. č. 04 847 121 001; Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo).
 - Mikropipety s aerosolovou přepážkou, zalepenou špičkou nebo systémem aktivního vypuzování (200 and 50 µl).
 - Jednorázové ochranné rukavice (bez pudru)
-

3 Upozornění a bezpečnostní zásady

Všeobecná laboratorní praxe

- Nepipetujte ústy.
- V laboratoři nejezte, nepijte a nekuřte.
- Noste jednorázové rukavice, laboratorní plášť a ochranu očí, když zacházíte se vzorky a reagenty.
- Po skončení práce se vzorky a reagenty si důkladně umyjte ruce.

Zacházení s materiálem

- Nemíchejte reagenty z různých šarží.
- Nepoužívejte sadu po datu expirace.
- Nepoužívejte otevřené nebo poškozené lahvičky s reagenty.

Bezpečnostní zásady pro používání přístroje LightCycler®

- Dodržujte všechny obecné bezpečnostní zásady, které platí pro elektrické přístroje.
- Nikdy se nedotýkejte spínačů nebo napájecí šňůry vlhkýma rukama.
- Neotvírejte kryt přístroje.
- Nikdy nečistěte přístroj, aniž byste jej vypnuli hlavním spínačem a odpojili napájecí šňůru ze zásuvky.
- Během provozu neotvírejte termální komoru.
- Víko komory a karusel se vzorky jsou během pracovního cyklu přístroje horké.

Poznámka: Údržbu a opravu tohoto přístroje by měli provádět pouze způsobilí servisní pracovníci.

Elektrická bezpečnost přístroje LightCycler®

- Přístroj LightCycler® 2.0 je navržen se stupněm ochrany I (IEC).
- Pokud je síťová šňůra popraskaná, zkroucená, ohořelá nebo jinak poškozená, musí být ihned vyměněna za ekvivalentní součást od Roche Diagnostics.

Všeobecné zásady pro údržbu přístroje LightCycler®

Chcete-li se informovat o možnostech servisního kontraktu, kontaktujte místní tým technické podpory společnosti Roche Diagnostics.

Reference: Uživatelská příručka pro přístroj LightCycler® 2.0.

Pokyny pro čištění přístroje LightCycler®

- Nelijte kapaliny do termální komory.

-
- Manipulace a likvidace infekčního materiálu by měla být prováděna v souladu s místními bezpečnostními předpisy.
 - Čistěte kryt přístroje šetrným běžným čisticím prostředkem. Pokud je to zapotřebí, použijte 70% ethanol pro desinfekci krytu přístroje.
 - Vyčistěte LightCycler® 2.0 Carousel tak, že odstraníte kapilární úlomky pomocí kartáčů dodávaných s přístrojem.

**Preventivní údržba
přístroje LightCycler®**

Pravidelně kontrolujte prostor okolo přístroje. Proudění vzduchu okolo přístroje nesmí být omezeno.

Poznámka: Knihy, papíry ani další materiál nesmí ovlivňovat proudění vzduchu.

4 Pracovní postup

Před použitím reagenty rozmrazte Bezprostředně před použitím musí být všechny reagenty zcela rozmrazeny a promíchány na vortexu.

Jak připravit kalibrační směsi

Tato tabulka znázorňuje přípravu kalibračních směsí.

Table 4.1 Příprava kalibračních směsí

Krok	Činnost
1	Rozmrazte komponenty sady LW Color Compensation Kit Krátce promíchejte na vortexu a rozdělte krátkým odstředěním.
2	Dejte čtyři kapiláry LightCycler® do předem ochlazených centrifugačních adaptérů.

Jak přidat vzorek do kapilár

Do vyhrazených kapilár LightCycler® přidejte 20 µl slepého vzorku Calibrator FAM, Calibrator JOE a Calibrator ROX.

Uzavřete každou kapiláru zátkou okamžitě po přidání vzorku pomocí LC Capping Tool (kat. č. 03 357 317 001).

Důležité je:

- Být opatrný při přidávání vzorků do kapilár LightCycler®, abyste předešli křížové kontaminaci mezi vzorky.
- Zabránit vniknutí bublin vzduchu do kapilár LightCycler®.

Jak připravit karusel pro LightCycler®.

- 1 Vložte kapiláry v následujícím pořadí do karuselu se vzorky přístroje LightCycler®:
 - Blank v pozici 1.
 - Calibrator FAM v pozici 2.
 - Calibrator JOE v pozici 3.
 - Calibrator ROX v pozici 4.
- 2 Přeneste míchadélko včetně LightCycler® Carousel do přístroje LC Carousel Centrifuge 2.0.
- 3 LC Carousel Centrifuge spustíte stiskem tlačítka **Start**
- 4 Po odstředění přemístěte LightCycler® Carousel do přístroje LightCycler® 2.0

Poznámka: Neměňte pořadí umístění kalibračních roztoků do LightCycler® Carousel.

Doba analýzy

Tato tabulka uvádí dobu potřebnou pro provedení analýzy.

Table 4.2 Doba analýzy

Postup	Doba
Příprava kalibrace	10 min
LightCycler® kalibrace	70 min
Celková doba analýzy	80 min

5 Přístroj LightCycler® 2.0

5.1 Úvodní informace o přístroji LightCycler® 2.0

Tato kapitola

Tato kapitola popisuje:

- Postupy potřebné pro provedení analýzy LW Color Compensation Kit na přístroji LightCycler® 2.0 (Roche Diagnostics).
- Analýza a interpretace výsledků pomocí softwaru LightCycler® verze 4.05 nebo vyšší.

Verze softwaru

Všechny specifikace se vztahují k softwaru LightCycler® verze 4.05 nebo vyšší.

Podrobné informace o programování

Reference: Pro podrobné informace o programování viz návod k obsluze pro LightCycler® 2.0 (verze softwaru 4.05 nebo vyšší).

5.2 Příprava přístroje LightCycler® 2.0

5.2.1 Dříve než začnete

Všechny kroky je nutné dodržet

Všechny kroky je nutné dodržet, aby bylo zajištěno správné provedení testu na přístroji LightCycler® 2.0.

Reference: 4. Pracovní tok

Jak se přihlásit k Exor Database (DB)

Pro informace o přihlášení se k tomuto softwaru viz návod k obsluze pro přístroj LightCycler® 2.0, pro diagnostiku *in vitro* (část A).

Poznámka: Je důležité se přihlásit k Exor Database (DB) s auditovou zkouškou před spuštěním makra.

Poznámka: Pokud jste přihlášení v režimu auditové zkoušky k Exor DB, je ve stavovém řádku softwaru zobrazeno slovo **Traceable**.

Jak instalovat makro

Pro informace o instalaci makra viz návod k obsluze pro přístroj LightCycler® 2.0, pro diagnostiku *in vitro* (část A).

Makro obsahuje specifické informace pro danou soupravu. Proto je nutné instalovat správné makro. Pouze v případě, že je nainstalována správná (odpovídající) verze makra, je systém připraven k vyhodnocení analýzy. Během přípravy analýzy je uživatel informován, pokud není nainstalována správná verze makra.

Poznámka: Je důležité, aby bylo nainstalováno správné makro LW Color Compensation Kit (kat. č. 04 847 121 001).

Poznámka: Makro obsahuje všechna nastavení potřebná pro provedení analýzy pomocí LW Color Compensation Kit.

Makro pro LW Color Compensation Kit neupravujte

Uživatel nesmí makro LW Color Compensation Kit měnit.

Pokud dojde ke změně makra, zobrazí se ve zprávě následující řádka: **User developed or modified test method.**

Poznámka: Pokud je makro upraveno, je analýza neplatná a musí být zopakována.

Reference: Uživatelský návod pro přístroj LightCycler® 2.0.

5.2.2

Spuštění analýzy na přístroji LightCycler® 2.0

Jak umístit LightCycler® Carousel do přístroje

Vložte LightCycler® Carousel včetně kapilár do přístroje LightCycler® 2.0.

Jak spustit makro

Tato tabulka vysvětluje postup spouštění makra.

Table 5.1 Jak spustit makro

Krok	Činnost
1	Spustěte makro stisknutím tlačítka Roche macro na přední straně a zadejte katalogové číslo soupravy. Poznámka: Katalogové číslo může být zadáno buď ručně (viz například první strana tohoto příbalového letáku), nebo načtením čárového kódu.
2	Software potvrdí, že je toto makro k dispozici. Pokračujte klepnutím na Yes . Poznámka: Spustí se průvodce, který vám pomůže se spuštěním makra.

Jak spustit analýzu

Umístění a názvy vzorků pro barevnou kompenzaci jsou v makru již definovány a nesmějí být měněny.

Analýzu spustíte klepnutím na tlačítko **Start run** v průvodci.

5.2.3 Analýza dat v softwaru LightCycler® verze 4.05 nebo vyšší.

Jak vytvořit výslednou zprávu Výsledná zpráva je vytvářena automaticky makrem LW Color Compensation Kit po skončení každé analýzy:

Analýza dat

- Analýza dat se provádí pomocí makra LW Color Compensation Kit.
 - Soubor spustíte klepnutím na tlačítko **Save CC Object**.
 - Uložte objekt do adresáře “Special Data\CCC” pod svým uživatelským jménem.
 - Pojmenujte objekt yyyyymmdd_LWccobject (např. 20060606_LWccobject).
-

Poznámka pro kupujícího

Zakoupením tohoto produktu získává kupující právo použít jej pro zesílení sekvence nukleové kyseliny a pro detekci sekvence nukleové kyseliny pro in vitro diagnostiku u člověka. Žádné patentové nebo licenční právo jakéhokoli typu jiné než specifikované právo použití není zakoupením udělováno.

Obchodní známky

ROCHE a LIGHTCYCLER jsou ochranné známky společnosti Roche.

Informace o výrobcí

Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
ŠVÉDSKO

Distribuce:

Roche Diagnostics GmbH
Roche Molecular Diagnostics
68298 Mannheim
NĚMECKO

Kontaktní informace

Kontaktujte prosím své místní zastoupení Roche
www.roche-diagnostics.com