



Czerwiec 2022 r.

# QIAsymphony<sup>®</sup> DSP DNA Mini Kit

## Instrukcja użycia (Karta protokołu)

Protokół DNA\_Buffy\_Coat\_200\_V7 DSP

Wersja 2

**IVD**

Do diagnostyki in vitro

Do użytku z zestawem QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)



**REF**

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Niemcy

R1

Karta protokołu jest dostępna w postaci elektronicznej i można ją znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Informacje ogólne

Zestaw QIASymphony DSP DNA Kit jest przeznaczony do diagnostyki in vitro.

Niniejszy protokół służy do oczyszczania całkowitego genomowego i mitochondrialnego DNA ze świeżej lub zamrożonej ludzkiej krwi pełnej za pomocą aparatu QIASymphony SP i zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

<b>Zestaw</b>	Zestaw QIASymphony DSP DNA Mini Kit (nr kat. 937236)
<b>Materiał próbki</b>	Kożuszek leukocyta-rytkowy (antykoagulowany EDTA, cytrynianem lub heparyną)
<b>Nazwa protokołu</b>	DNA_BC_200_V7_DSP
<b>Domyślny zestaw ustawień kontrolnych badania</b>	ACS_BC_200_V7_DSP
<b>Możliwość dostosowania</b>	Objętość elucji: 200, 300 i 400 µl
<b>Wymagana wersja oprogramowania</b>	Wersja 4.0 lub wyższa
<b>Wymagana konfiguracja oprogramowania do stosowania w diagnostyce in vitro</b>	Domyślny profil 1

## Szuflada „Sample” (Próbka)

<b>Typ próbki</b>	Ludzka krew pełna (antykoagulowana EDTA, cytrynianem lub heparyną)
<b>Objętość próbki</b>	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Próbki pierwotne</b>	nd.
<b>Próbki wtórne</b>	Więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Wkłady</b>	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .

nd. = nie dotyczy.

## Szuflada „Reagents and Consumables” (Odczynniki i materiały eksploatacyjne)

<b>Pozycja A1 i/lub A2</b>	Kaseta z odczynnikiem (RC)
<b>Pozycja B1</b>	nd.
<b>Uchwyt na statyw na końcówki 1–17</b>	Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 lub 1500 µl
<b>Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4</b>	Opakowania jednostkowe zawierające kasety do przygotowania próbek lub zamknięcia 8-Rod Covers

nd. = nie dotyczy.

## Szuflada „Waste” (Odpady)

<b>Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4</b>	Puste opakowania jednostkowe
<b>Uchwyt na worek na odpady</b>	Worek na odpady
<b>Uchwyt na butlę na odpady płynne</b>	Pusta butla na odpady płynne

## Szuflada „Eluate” (Eluat)

Statyw elucji (zalecamy używanie gniazda 1, pozycji chłodzenia)

Więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego

Sprzęt z tworzywa sztucznego	Jedna partia, 24 próbki*	Dwie partie, 48 próbek*	Trzy partie, 72 próbki*	Cztery partie, 96 próbek*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	2	2	2	2
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	110	212	314	416
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

\* W przypadku używania mniej niż 24 próbek na jedną partię zmniejsza się liczba jednorazowych końcówek z filtrem wymaganych na cykl.

† Statyw na końcówki zawiera 32 końcówki z filtrem.

‡ Liczba wymaganych końcówek z filtrem obejmuje końcówki z filtrem dla 1 skanowania inwentaryzującego na kasetę RC.

§ Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kaset do przygotowania próbek.

¶ Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-Rod Covers.

**Uwaga:** Podane liczby końcówek z filtrem mogą różnić się od liczb wyświetlanych na ekranie dotykowym w zależności od ustawień. Zalecamy załadowanie maksymalnej możliwej liczby końcówek.

## Objętość elucji

Objętość elucji jest wybierana na ekranie dotykowym. W zależności od typu próbki i zawartości DNA końcowa objętość eluatu może być mniejsza o maksymalnie 15 µl od wybranej objętości. Ze względu na możliwość występowania różnic w objętości eluatu podczas korzystania z systemu zautomatyzowanej konfiguracji oznaczenia, który nie weryfikuje objętości eluatu przed jego przeniesieniem, zalecamy sprawdzenie rzeczywistej objętości eluatu. Elucja w mniejszych objętościach zwiększa końcowe stężenie DNA, ale nieznacznie zmniejsza uzysk. Zalecamy stosowanie objętości elucji odpowiedniej do zaplanowanych dalszych procedur analitycznych.

## Przygotowanie materiału próbki

Podczas pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze nosić odpowiedni fartuch laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe i okulary ochronne. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z kartami charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS) uzyskanymi od producentów poszczególnych produktów.

Ogólne zalecenia dotyczące pobierania, transportu i przechowywania znajdują się w zatwierdzonej wytycznej MM13-A instytutu CLSI — „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods”. Ponadto podczas przygotowania, przechowywania, transportu próbki oraz postępowania z nią należy przestrzegać instrukcji producenta wybranego wyrobu do pobierania próbki.

## Kożuszek leukocytno-płytkowy

Kożuszek leukocytno-płytkowy to frakcja krwi pełnej wzbogacona leukocytami. Wydajność wzbogacenia leukocytami zależy od procedury wykorzystywanej do przygotowania kożuszka leukocytno-płytkowego oraz od dokładności podczas pobierania warstwy kożuszka leukocytno-płytkowego. Przygotować kożuszek leukocytno-płytkowy, wirując próbki krwi pełnej zawierające standardowy antykoagulant (EDTA, cytrynian lub heparynę) przy 900–1100 x g przez 10 minut w temperaturze pokojowej (15–25°C). Po odwirowaniu można rozróżnić 3 różne frakcje: górna, przejrzysta warstwa to osocze; środkowa warstwa to kożuszek leukocytno-płytkowy — koncentrat leukocytów; a dolna warstwa to koncentrat krwinek czerwonych. Z 10 ml odwirowanej krwi pełnej powinno być możliwe pobranie około 1 ml frakcji zawierającej leukocyty, co skutkuje wzbogaceniem o średnio 5–6 razy. Przykład: z 10 ml krwi pełnej o liczbie krwinek białych równej  $6 \times 10^6$  komórek/ml otrzymano 1 ml kożuszka leukocytno-płytkowego. Zakładając 5-krotne wzbogacenie o krwinki białe, otrzymano stężenie  $3 \times 10^7$  komórek/ml. Z tego względu w protokole, w którym stosowane jest 200 µl kożuszka leukocytno-płytkowego, zostanie zużytych  $6 \times 10^6$  komórek.

Aby uniknąć przeładowania procedury oczyszczania DNA, nie należy przygotowywać próbek kożuszka leukocytno-płytkowego z >10-krotnym wzbogaceniem. Jeśli próbki kożuszka leukocytno-płytkowego są wzbogacone >10-krotnie, należy rozcieńczyć je do wzbogacenia 10-krotnego lub mniejszego, używając buforu PBS, lub użyć mniejszej ilości materiału początkowego do procedury oczyszczania DNA.

Próbki kożuszka leukocytno-płytkowego można użyć niezwłocznie, przechowywać krótkoterminowo (do 7 dni) w temperaturze 2–8°C lub przechowywać w temperaturze -20°C bądź -80°C w celu późniejszego oczyszczenia DNA. Zamrożone próbki należy szybko rozmrozić w łaźni wodnej w temperaturze 37°C z delikatnym wstrząsaniem, aby zapewnić ich dokładne wymieszanie, a następnie przed rozpoczęciem procedury doprowadzić do temperatury pokojowej (15–25°C). Aby zapewnić niezawodne przeniesienie próbki, nie dopuszczać do wytworzenia się piany w probówkach. Starać się nie dopuścić do wytworzenia skrzepów krwi w próbkach i, w razie potrzeby, przenieść próbkę bez skrzepów do świeżej probówki.

**Uwaga:** Stabilność próbki w znacznym stopniu zależy od różnych czynników i jest powiązana z określonymi dalszymi etapami procedury. Do obowiązków użytkownika należy zapoznanie się z instrukcjami określonych dalszych procedur wykorzystywanych w laboratorium i/lub walidacja całej procedury w celu ustalenia odpowiednich warunków przechowywania.

## Przechowywanie eluatów

Zalecane jest wyciągnięcie płytki z szuflady „Eluate” (Eluat) niezwłocznie po zakończeniu cyklu. Po zakończeniu cyklu płytki do elucji można pozostawić w aparacie QIASymphony SP przez noc (maksymalnie 12 godzin, w tym czas trwania cyklu; zalecane warunki środowiskowe: 18–26°C i 20–75% wilgotności względnej). Zależnie od temperatury i wilgotności eluat może ulec skraplaniu lub wyparowaniu.

W przypadku przechowywania krótkoterminowego eluaty można przechowywać w temperaturze pokojowej przez okres maks. 2 tygodni. W przypadku przechowywania długoterminowego zalecamy przechowywanie w temperaturze 2–8°C, -20°C lub -80°C. Zamrożonych eluatów nie można rozmrażać więcej niż 3 razy.

**Uwaga:** Stabilność eluatu w znacznym stopniu zależy od różnych czynników i jest powiązana z określonymi dalszymi etapami procedury. Dla zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit została ona ustalona w połączeniu z przykładowymi dalszymi etapami procedur. Do obowiązków użytkownika należy zapoznanie się z instrukcjami określonych dalszych procedur wykorzystywanych w laboratorium i/lub walidacja całej procedury w celu ustalenia odpowiednich warunków przechowywania.

## Ważna informacja przed rozpoczęciem

- Cząstki magnetyczne QIASymphony mogą spowodować jednoczesne oczyszczenie RNA, jeśli jest on obecny w próbce. W celu zminimalizowania zawartości RNA w próbce przed rozpoczęciem procedury należy dodać do próbki odczynnik RNase A. Końcowe stężenie RNazy A powinno wynosić 2 mg/ml.

## Ograniczenia i substancje zakłócające





Wysokie stężenie trójglicerydów (>30 g/l) w próbce może zmniejszyć uzysk gDNA.

**Uwaga:** Podczas opracowywania zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit nie zauważono, by heparyna miała negatywny wpływ na jego skuteczność. Jednak zgodnie z normą ISO 20186-2:2019(E) heparyna znajdująca się w próbkach do pobierania krwi może wpłynąć na czystość wyizolowanych kwasów nukleinowych, a potencjalne zanieczyszczenie eluatów spowodowane przeniesieniem może skutkować inhibicją w przypadku niektórych dalszych procedur. Dlatego obowiązkiem użytkownika jest sprawdzenie, czy heparyna ma negatywny wpływ na stosowaną procedurę.

**Uwaga:** W celu oceny jakości wyizolowanych kwasów nukleinowych przeprowadzono testy przy użyciu przykładowych procedur. Jednak wymagania w zakresie stopnia czystości (braku potencjalnych substancji zakłócających) mogą różnić się między procedurami, dlatego w ramach opracowywania dalszych etapów procedur, w których stosowany jest zestaw QIASymphony DSP DNA Mini Kit, należy zidentyfikować i przetestować odpowiednie substancje.

## Symbole

W niniejszym dokumencie pojawiają się poniższe symbole. Pełna lista symboli stosowanych w instrukcji użycia lub na opakowaniu i oznaczeniach znajduje się w instrukcji obsługi.

Symbol	Definicja symbolu
	Ten produkt spełnia wymogi Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro.
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Numer katalogowy
Rn	R oznacza wydanie instrukcji użycia, a n oznacza numer wydania
	Producent

## Historia zmian

### Wydanie

R1, czerwiec 2022 r.

### Opis

Wersja 2, wydanie 1

- Aktualizacja do wersji 2 w celu spełnienia wymagań w zakresie IVD
- Dodano sekcję Ograniczenia i substancje zakłócające
- Dodano sekcję Przechowywanie eluatów
- Dodano sekcję Symbole
- Aktualizacja sekcji Przygotowanie materiału próbki

Aktualne informacje licencyjne oraz wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN®. Instrukcje obsługi i podręczniki użytkownika zestawów QIAGEN są dostępne pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Można je także zamówić w serwisie technicznym firmy QIAGEN lub u lokalnego dystrybutora.

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały wyraźnie oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.  
06/2022 HB-3029-S04-001© 2022 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.