



Ιούνιος 2022

Οδηγίες χρήσης QIASymphony® DSP DNA Mini Kit (Φύλλο πρωτοκόλλου)

Πρωτόκολλο DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP

Έκδοση 2

IVD

Για in vitro διαγνωστική χρήση

Για χρήση με το QIASymphony DSP DNA Mini Kit (192)

CE

REF

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Γερμανία

R1

Το φύλλο πρωτοκόλλου είναι διαθέσιμο ηλεκτρονικά και βρίσκεται στην καρτέλα πόρων της σελίδας του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com.

Γενικές πληροφορίες

Το QIASymphony DSP DNA Kit προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση.

Αυτό το πρωτόκολλο αφορά τον καθαρισμό ολικού γονιδιωματικού και μιτοχονδριακού DNA από φρέσκο ή κατεψυγμένο ανθρώπινο ολικό αίμα με χρήση του QIASymphony SP και του QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Κιτ	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (αρ. κατ. 937236)
Υλικό δείγματος	Λευκοκρίτης (με προσθήκη αντιπηκτικού EDTA, κιτρικών ή ηπαρίνης)
Όνομα πρωτοκόλλου	DNA_BC_200_V7_DSP
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	ACS_BC_200_V7_DSP
Διαμορφώσιμο	Όγκος έκλουσης: 200, 300 και 400 μl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4.0 ή μεταγενέστερη
Απαιτούμενη διαμόρφωση λογισμικού για χρήση IVD	Προεπιλεγμένο προφίλ 1

Συρτάρι Sample (Δείγμα)

Τύπος δείγματος	Ανθρώπινο ολικό αίμα (με αντιπηκτικό EDTA, κιτρικά ή ηπαρίνη)
Όγκος δείγματος	Εξαρτάται από τον τύπο του σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται. Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων της σελίδας του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com .
Κύρια σωληνάρια δείγματος	δ.ε.
Δευτερεύοντα σωληνάρια δείγματος	Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων της σελίδας του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com .
Ένθετα	Εξαρτάται από τον τύπο του σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται. Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων της σελίδας του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com .

δ.ε. = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι Reagents and Consumables (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 ή/και A2	Φύσιγγα αντιδραστηρίων (RC)
Θέση B1	δ.ε.
Στήριγμα βάσης ρυγχών 1–17	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 ή 1500 μl
Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή 8-Rod Covers

δ.ε. = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι Waste (Απόβλητα)

Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κενά κουτιά μονάδων
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Κενή φιάλη υγρών αποβλήτων

Συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα)

Βάση έκλουσης (συνιστούμε τη χρήση της υποδοχής 1, θέση ψύξης)

Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε τον κατάλογο εργαστηριακού εξοπλισμού, που βρίσκεται στην καρτέλα πόρων της σελίδας του προϊόντος στον ιστότοπο www.qiagen.com.

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά

Πλαστικά υλικά	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες, 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*
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

* Η χρήση λιγότερων από 24 δειγμάτων ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

[†] Υπάρχουν 32 ρύγχη φίλτρου/βάση ρυγχών.

[‡] Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά RC.

[§] Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

^{††} Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα 8-Rod Covers.

Σημείωση: Ανάλογα με τις εκάστοτε ρυθμίσεις, οι αριθμοί των ρυγχών φίλτρου ενδέχεται να διαφέρουν από εκείνους που προβάλλονται στην οθόνη αφής. Συνιστούμε τη φόρτωση του μέγιστου δυνατού αριθμού ρυγχών.

Όγκος έκλουσης

Ο όγκος έκλουσης επιλέγεται στην οθόνη αφής. Ανάλογα με τον τύπο δείγματος και την περιεκτικότητα σε DNA, ο τελικός όγκος εκλούσματος μπορεί να είναι έως και 15 µl μικρότερος από τον επιλεγμένο όγκο. Επειδή ο όγκος εκλούσματος μπορεί να ποικίλλει, συνιστούμε τον έλεγχο του πραγματικού όγκου εκλούσματος όταν χρησιμοποιείτε αυτοματοποιημένο σύστημα ρύθμισης παραμέτρων προσδιορισμού που δεν επαληθεύει τον όγκο εκλούσματος πριν από τη μεταφορά. Η έκλουση σε μικρότερους όγκους αυξάνει την τελική συγκέντρωση DNA, αλλά μειώνει ελαφρώς την απόδοση. Συνιστούμε τη χρήση κατάλληλου όγκου έκλουσης για την προοριζόμενη καθοδική εφαρμογή.

Προετοιμασία υλικών δειγμάτων

Κατά την εργασία με χημικές ουσίες, φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφαλείας (Safety Data Sheets, SDS), τα οποία διατίθενται από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Για γενικές συστάσεις συλλογής, μεταφοράς και φύλαξης, ανατρέξτε στο εγκεκριμένο έγγραφο καθοδήγησης του CLSI, MM13-A «Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods». Περαιτέρω, πρέπει να ακολουθούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή της επιλεγμένης συσκευής συλλογής δειγμάτων κατά την προετοιμασία, φύλαξη, μεταφορά και γενικό χειρισμό των δειγμάτων.

Λευκοκρίτης

Ο λευκοκρίτης (buffy coat) είναι το εμπλουτισμένο με λευκοκύτταρα κλάσμα του ολικού αίματος. Η αποτελεσματικότητα του εμπλουτισμού σε λευκοκύτταρα εξαρτάται από τη χρησιμοποιούμενη διαδικασία για την παρασκευή του λευκοκρίτη και από την ακρίβεια εκχύλισης της στρώσης του λευκοκρίτη. Παρασκευάστε τον λευκοκρίτη φυγοκεντρίζοντας δείγματα ολικού αίματος που περιέχουν πρότυπο αντιπηκτικό (EDTA, κιτρικά ή ηπαρίνη) σε 900–1100 x g για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15–25 °C). Μετά τη φυγοκέντρωση, διακρίνονται 3

διαφορετικά κλάσματα: η άνω διαυγής στρώση είναι το πλάσμα, ακολουθεί η ενδιάμεση στρώση του λευκοκρίτη που περιέχει συμπυκνωμένα λευκοκύτταρα και κατόπιν η κάτω στρώση που περιέχει συμπυκνωμένα ερυθροκύτταρα. Περίπου 1 ml κλάσματος που περιέχει λευκοκύτταρα θα πρέπει να συλλέγεται από 10 ml φυγοκεντρισμένου ολικού αίματος, το οποίο κατά μέσο όρο αποδίδει πενταπλάσιο–εξαπλάσιο εμπλουτισμό. Για παράδειγμα, 10 ml ολικού αίματος με αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων 6×10^6 ανά ml αποδίδουν 1 ml λευκοκρίτη. Εάν υποθεθεί πενταπλάσιος εμπλουτισμός λευκών αιμοσφαιρίων, το αποτέλεσμα θα είναι 3×10^7 κύτταρα ανά ml. Ως εκ τούτου, σε πρωτόκολλο στο οποίο χρησιμοποιούνται 200 μl λευκοκρίτη, θα χρησιμοποιηθούν 6×10^6 κύτταρα.

Για τη αποφυγή υπερφόρτωσης της διαδικασίας καθαρισμού DNA, μην παρασκευάζετε δείγματα λευκοκρίτη με εμπλουτισμό άνω του δεκαπλάσιου. Εάν τα δείγματα λευκοκρίτη παρουσιάζουν εμπλουτισμό άνω του δεκαπλάσιου, αραιώστε τα δείγματα σε δεκαπλάσιο ή χαμηλότερο εμπλουτισμό με PBS ή χρησιμοποιήστε λιγότερο υλικό έναρξης στη διαδικασία καθαρισμού DNA.

Τα δείγματα λευκοκρίτη μπορούν να χρησιμοποιηθούν αμέσως, να φυλαχθούν για βραχυπρόθεσμη χρήση για έως 7 ημέρες στους $2-8^\circ\text{C}$ ή να φυλαχθούν στους -20°C ή -80°C για καθαρισμό DNA σε μεταγενέστερη ημερομηνία. Τα κατεψυγμένα δείγματα θα πρέπει να αποψύχονται ταχέως σε υδατόλουτρο 37°C με ήπια ανακίνηση για τη διασφάλιση σχολαστικής ανάμιξης και κατόπιν να εξισορροπούνται σε θερμοκρασία δωματίου ($15-25^\circ\text{C}$) πριν από την έναρξη της διαδικασίας. Για τη διασφάλιση αξιόπιστης μεταφοράς δείγματος, αποφύγετε το σχηματισμό αφρού σε σωληνάρια δειγμάτων. Προσπαθήστε να αποφύγετε το σχηματισμό πηγμάτων αίματος στα δείγματα, και εάν χρειαστεί, μεταφέρετε το δείγμα χωρίς πηγμάτα σε φρέσκο σωληνάριο.

Σημείωση: Η σταθερότητα του δείγματος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζεται με τη συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Ο χρήστης φέρει την ευθύνη να συμβουλευτεί τις οδηγίες χρήσης της συγκεκριμένης καθοδικής εφαρμογής που χρησιμοποιείται στο εργαστήριό του ή/και να επικυρώνει το σύνολο της ροής εργασιών για να καθορίσει τις κατάλληλες συνθήκες φύλαξης.

Φύλαξη εκλουσμάτων

Συνιστάται η αφαίρεση της πλάκας εκλούσματος από το συρτάρι «Eluate» (Έκλουσμα) αμέσως μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης. Οι πλάκες έκλουσης μπορούν να παραμείνουν στο QIASymphony SP μετά την ολοκλήρωση της εκτέλεσης κατά τη διάρκεια της νύχτας (μέγιστος χρόνος 12 ώρες, συμπεριλαμβανομένου του χρόνου εκτέλεσης, συνιστώμενες περιβαλλοντικές συνθήκες: θερμοκρασία $18-26^\circ\text{C}$ και σχετική υγρασία $20-75\%$). Ανάλογα με τη θερμοκρασία και την υγρασία, το έκλουσμα μπορεί να υποστεί συμπίκνωση ή εξάτμιση.

Για βραχυπρόθεσμη φύλαξη, τα εκλούσματα μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία δωματίου για έως και 2 εβδομάδες. Για μακροπρόθεσμη φύλαξη, συνιστούμε φύλαξη στους $2-8^\circ\text{C}$, -20°C ή -80°C . Τα κατεψυγμένα εκλούσματα δεν πρέπει να αποψύχονται περισσότερες από 3 φορές.

Σημείωση: Η σταθερότητα του εκλούσματος εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες και σχετίζεται με τη συγκεκριμένη καθοδική εφαρμογή. Έχει τεκμηριωθεί για το QIASymphony DSP DNA Mini Kit σε συνδυασμό με ενδεικτικές καθοδικές εφαρμογές. Ο χρήστης φέρει την ευθύνη να συμβουλευτεί τις οδηγίες χρήσης της συγκεκριμένης καθοδικής εφαρμογής που χρησιμοποιείται στο εργαστήριό του ή/και να επικυρώνει το σύνολο της ροής εργασιών για να καθορίσει τις κατάλληλες συνθήκες φύλαξης.

Σημαντική πληροφορία πριν από την έναρξη

- Τα μαγνητικά σωματίδια QIASymphony ενδεχομένως θα καθαρίσουν επίσης RNA, εάν υπάρχει στο δείγμα. Για να ελαχιστοποιήσετε την περιεκτικότητα του δείγματος σε RNA, προσθέστε RNase A στο δείγμα, προτού ξεκινήσετε τη διαδικασία. Η τελική συγκέντρωση RNase A θα πρέπει να είναι 2 mg/ml.

Περιορισμοί και παρεμβαλλόμενες ουσίες





Τα δείγματα αίματος με υψηλές συγκεντρώσεις τριγλυκεριδίων (>30 g/l) μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένη απόδοση gDNA.

Σημείωση: Επισημαίνεται ότι, κατά την ανάπτυξη του QIASymphony DSP DNA Mini Kit, δεν παρατηρήθηκαν ενδείξεις αρνητικής επίδρασης της ηπαρίνης στην απόδοση. Ωστόσο, το πρότυπο ISO 20186-2:2019(E) αναφέρει ότι η ηπαρίνη από σωληνάρια συλλογής αίματος μπορεί να επηρεάσει την καθαρότητα των απομονωμένων νουκλεϊκών οξέων, και η πιθανή επιμόλυνση στα εκλούσματα θα μπορούσε να προκαλέσει αναστολή σε ορισμένες καθοδικές εφαρμογές. Συνεπώς, αποτελεί ευθύνη του χρήστη να επικυρώσει εάν η ηπαρίνη έχει αρνητική επίδραση στη ροή εργασιών του.

Σημείωση: Διεξήχθησαν εξετάσεις με τη χρήση ενδεικτικών καθοδικών εφαρμογών για την αξιολόγηση της ποιότητας των εκχυλισμένων νουκλεϊκών οξέων. Ωστόσο, διαφορετικές καθοδικές εφαρμογές μπορεί να έχουν διαφορετικές απαιτήσεις όσον αφορά την καθαρότητα (δηλ. απουσία πιθανών παρεμβαλλόμενων ουσιών), έτσι η αναγνώριση και η εξέταση των σχετικών ουσιών πρέπει να τεκμηριωθεί επίσης στο πλαίσιο της ανάπτυξης της καθοδικής εφαρμογής για οποιαδήποτε ροή εργασιών που περιλαμβάνει το QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Σύμβολα

Σε αυτό το έγγραφο εμφανίζονται τα παρακάτω σύμβολα. Για ένα πλήρη κατάλογο των συμβόλων που χρησιμοποιούνται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και την επισήμανση, ανατρέξτε στο εγχειρίδιο.

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
	Το προϊόν πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 2017/746 για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα.
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Αριθμός καταλόγου
Rn	Η ένδειξη R αφορά την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης
	Κατασκευαστής

Ιστορικό αναθεώρησης

Αναθεώρηση

R1, Ιούνιος 2022

Περιγραφή

Έκδοση 2, Αναθεώρηση 1

- Ενημέρωση στην έκδοση 2 για συμμόρφωση με τις απαιτήσεις περί IVD
- Προσθήκη ενότητας «Περιορισμοί και παρεμβαλλόμενες ουσίες»
- Προσθήκη ενότητας «Φύλαξη εκλουσμάτων»
- Προσθήκη ενότητας «Σύμβολα»
- Ενημέρωση ενότητας «Προετοιμασία υλικών δειγμάτων»

Για ενημερωμένες πληροφορίες άδειας και δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στις αντίστοιχες οδηγίες ή εγχειρίδιο χρήσης του kit QIAGEN®. Οι οδηγίες και τα εγχειρίδια χρήσης των kit QIAGEN διατίθενται στον ιστότοπο www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα Τεχνικής Εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό διανομέα σας.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Οι καταχωρισμένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και εάν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.
06/2022 HB-3029-S04-001© 2022 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.