

Návod na použitie (Príručka) pre QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA Kit



192

Verzia 2



Na diagnostické použitie in vitro

Na použitie so súpravou QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Nemecko



1127534SK

Obsah

Zamýšľané použitie	4
Zamýšľaný používateľ	4
Popis a princíp.....	5
Súhrn a vysvetlenie.....	7
Dodávané materiály	8
Obsah súpravy	8
Požadované materiály, ktoré sa nedodávajú.....	9
Doplňkové reagensie	9
Spotrebný materiál	9
Zariadenie	10
Protokol a laboratórne vybavenie.....	10
Varovania a preventívne opatrenia.....	11
Bezpečnostné informácie	11
Núdzové informácie	12
Preventívne opatrenia	12
Likvidácia	13
Skladovanie a manipulácia s reagensiami.....	14
Stabilita pri používaní	14
Odber a skladovanie vzoriek a manipulácia s nimi	15
Postup	16
Automatizovaná purifikácia na QIASymphony SP	16
Protokol: Purifikácia cirkulujúcej bezbunkovej DNA	22

Kontrola kvality	27
Obmedzenia	27
Charakteristiky účinnosti.....	28
Sprievodca riešením problémov	29
Symboly.....	31
Kontaktné informácie.....	33
Príloha: Kvantifikácia cirkulujúcej bezbunkovej DNA.....	34
Informácie o objednávaní	35
História úprav dokumentu.....	37

Zamýšľané použitie

Súprava QIASymphony DSP Circulating DNA Kit využíva technológiu magnetických častíc na automatické izolovanie a čistenie ľudskej cirkulujúcej bezbunkovej DNA z biologických vzoriek.

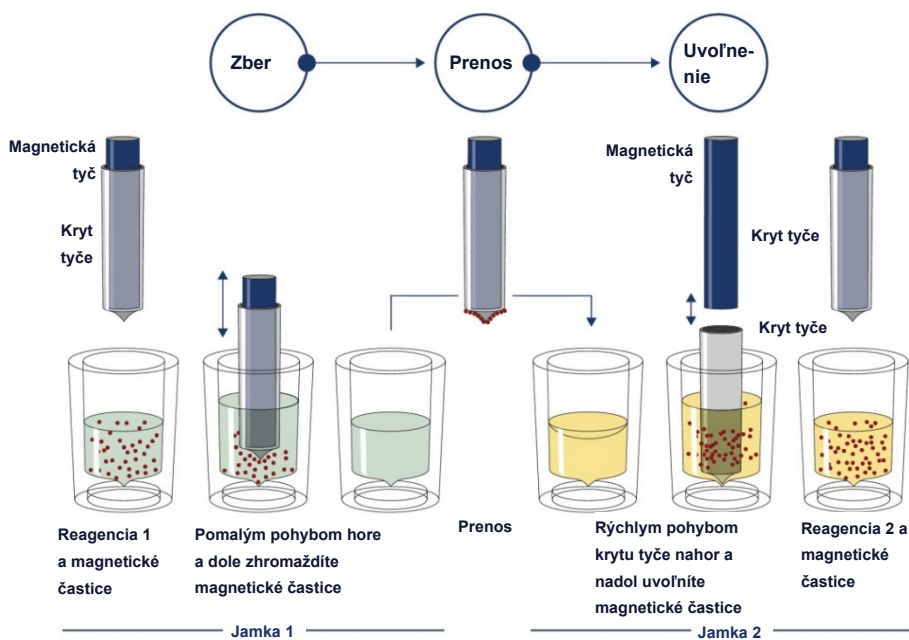
Súprava QIASymphony DSP Circulating DNA Kit je určená na diagnostické použitie in vitro.

Zamýšľaný používateľ

Súprava QIASymphony DSP Circulating DNA Kit je určená na použitie profesionálnymi používateľmi, ako sú technici a lekári vyškolení v technikách molekulárnej biológie.

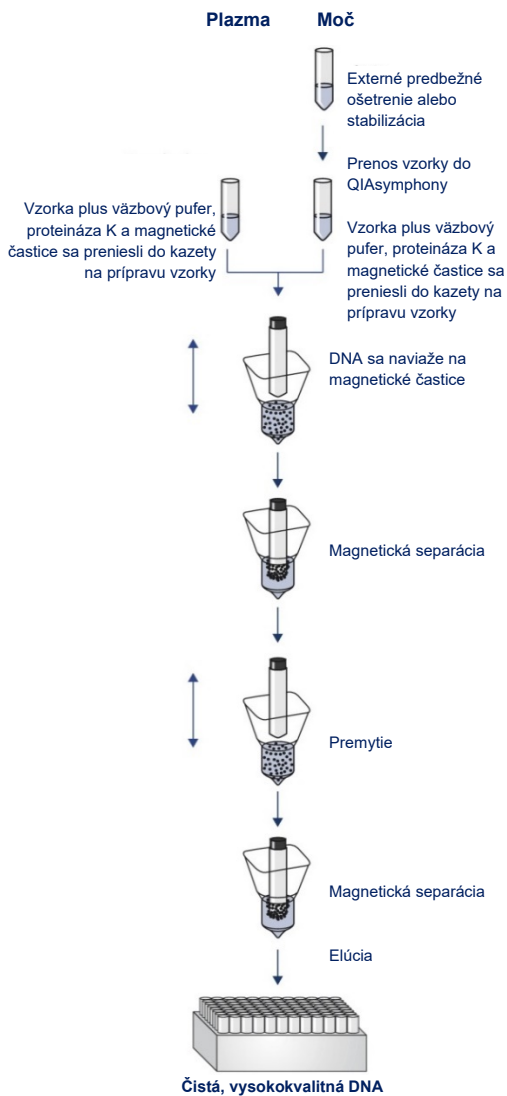
Popis a princíp

Technológia QIASymphony kombinuje rýchlosť a účinnosť purifikácie nukleových kyselín na báze výmeny aniónov s pohodlnou manipuláciou s magnetickými časticami (obrázok 1, nižšie). Postup čistenia je navrhnutá tak, aby zabezpečila bezpečnú a reprodukovateľnú manipuláciu s potenciálne infekčnými vzorkami, a zahŕňa 3 kroky: viazanie, premytie a elúciu (pozri schému na strane 6). Používateľ si môže zvoliť medzi rôznymi vstupnými objemami.



Obrázok 1. Schematický náčrt princípu QIASymphony SP. Prístroj QIASymphony SP spracováva vzorku obsahujúcu magnetické častice nasledujúcim spôsobom: Magnetická tyč chránená krytom prejde do jamky obsahujúcej vzorku a priťahne magnetické častice. Kryt magnetickej tyče je umiestnený nad ďalšou jamkou a magnetické častice sú uvoľnené. Tieto kroky sa počas spracovania vzorky niekoľkokrát opakujú. Prístroj QIASymphony SP používa magnetickú hlavicu so súpravou 24 magnetických tyčí, a môže preto súčasne spracovávať až 24 vzoriek.

Postup QIAasymphony DSP Circulating DNA



Súhrn a vysvetlenie

Cirkulujúce bezbunkové nukleové kyseliny (ccfNA) sú prítomné v plazme alebo moči, zvyčajne ako krátke fragmenty, < 1 000 bp (DNA) a < 1 000 nt (RNA). Koncentrácia ccfNA v biologických tekutinách, ako napríklad plazma alebo moč, je zvyčajne nízka a medzi jednotlivcami výrazne kolíše. Pri ccfNA môže byť koncentrácia v rozsahu 1 až 100 ng/ml. Systém cirkulujúcej DNA QIASymphony DSP sa skladá zo systému in vitro pripraveného na použitie na kvalitatívnu purifikáciu ľudskej cirkulujúcej bezbunkovej DNA (ccfDNA) z ľudskej plazmy a moču pomocou prístroja QIASymphony SP.

Súprava QIASymphony DSP Circulating DNA Kit poskytuje reagentie pre plne automatickú a simultánnu purifikáciu ľudskej ccfDNA z ľudskej plazmy a moču. Výkonnosť charakteristika pre každú zbernú skúmavku na krv nebola stanovená a používateľ ju musí overiť. Technológia magnetických častíc umožňuje purifikáciu vysoko kvalitných nukleových kyselín, ktoré neobsahujú bielkoviny, nukleázy a iné nečistoty. Vyčistená ccfDNA je kompatibilná so širokým spektrom následných aplikácií. QIASymphony SP vykonáva všetky kroky procedúry čistenia. V jednom cykle sa spracuje až 96 vzoriek v dávkach po 24 kusov. Vzorky moču môžu vyžadovať manuálne predbežné ošetrenie vzorky.

Dodávané materiály

Obsah súpravy

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit	(192)
Katalógové č.	937556
Počet reakcií	192

Skratky	Identita	Množstvo	Aktívne zložky	Konzentrácia [%]*
RC	Reagent cartridge† (Reagenčná kazeta) REAG CART	2	Neiónové čistiace prostriedky Magnetické častice s výmenou aniónov NaOH Etanol	≥ 0,5 až < 10 [hm./hm.] n/a ≥ 0,05 až < 0,1 [hm./hm.] ≥ 70 až < 90 [obj./obj.]
PROTK PROTK	QIAGEN Proteinase K (QIAGEN Proteináza K)	6 × 10 ml	Proteináza K	≥ 1 až < 3 % [hm./hm.]
PL	Piercing lid (Dierovacie viečko)	2	n/a	n/a
RSS	Reuse Seal Set† (Súprava tesnení na opakované použitie)	2	n/a	n/a
	Návod na použitie (Príručka)	1	n/a	n/a

* Maximálna koncentrácia v jednej jamke.

† Obsahuje azid sodný ako konzervačnú látku.

‡ Súprava Reuse Seal Set obsahuje 8 tesniacich pásov na opakované použitie.

Požadované materiály, ktoré sa nedodávajú

Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Viac informácií nájdete na príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ), ktoré sú k dispozícii u dodávateľa výrobkov.

Doplnkové reagensie

- Buffer ATL (na predbežnú úpravu vzoriek moču; kat. č. 939016)
- Soľný roztok pufrovaný fosfátom (Phosphate-Buffered Saline, PBS; môže byť potrebný na doplnenie objemov vzoriek)

Ďalšie informácie potrebné na predbežnú úpravu a stabilizáciu vzoriek moču nájdete v protokolovom hárku, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na strane výrobku na adrese www.qiagen.com.

Spotrebný materiál

- Kazety Sample Prep Cartridges, 8-well (kat. č. 997002)
- 8-Rod Covers (kat. č. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl and 1500 µl (kat. č. 990332 a 997024)
- Skúmavky na vzorky. Kompatibilné primárne a sekundárne formáty skúmaviek nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na strane výrobku na adrese www.qiagen.com.
- Elučné skúmavky alebo platničky. Kompatibilné formáty elučných skúmaviek a platničiek nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na strane výrobku na adrese www.qiagen.com.

Zariadenie*

- QIASymphony SP (kat. č. 9001297)
- Vortex

Protokol a laboratórne vybavenie

Návod na použitie pozostáva okrem príručky z protokolového hárku, zoznamu laboratórneho vybavenia a charakteristík účinnosti, ktoré nájdete v záložke zdrojov na stránke výrobcu na www.qiagen.com.

*Pred použitím zabezpečte, aby sa prístroje skontrolovali a nakalibrovali podľa odporúčaní výrobcu.

Varovania a preventívne opatrenia

Vezmite na vedomie, že môžete byť požiadaní, aby ste si naštudovali miestne nariadenia pre nahlasovanie vážnych incidentov, ktoré vznikli v súvislosti s pomôckou. Výrobci a/alebo jeho oprávnenému zástupcovi a regulačnému orgánu, ku ktorému používateľ a/alebo pacient prináleží.

Na diagnostické použitie in-vitro

Pred použitím súpravy si dôkladne prečítajte všetky pokyny.

Upozorňujeme na nasledujúce vedľajšie riziká:

- Pri používaní sekundárnych skúmaviek dbajte na to, aby sa ID vzoriek počas prenosu ID vzorky z primárnej do sekundárnej skúmavky nepomiešali.
- ID vzoriek je možné zadať aj manuálne (podrobnosti nájdete v *používateľskej príručke QIASymphony SP*). Ak sa manuálne zadajú nesprávne ID údaje, môže dôjsť k nesprávnej korelácii medzi vzorkou a pacientom.

Bezpečnostné informácie

Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Ďalšie informácie nájdete v príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ). Tieto materiály sú k dispozícii on-line v praktickom a kompaktnom formáte PDF na adrese www.qiagen.com/safety. Na tejto adrese môžete vyhľadať, zobrazit' a vytlačiť kartu bezpečnostných údajov (KBÚ) pre každú súpravu QIAGEN a jej súčasti.

- Všetky chemikálie a biologické materiály sú potenciálne nebezpečné. Vzorky sú potenciálne infekčné a musí sa s nimi zaobchádzať ako s biologicky nebezpečnými materiálmi.

- Odpad vzoriek a testov likvidujte podľa miestnych bezpečnostných postupov.

VAROVANIE **Nebezpečenstvo zranenia**



Nepridávajte bieliace alebo kyslé roztoky priamo do odpadu z prípravy vzoriek.

Pufre v reagenčnej kazete obsahujú azid sodný. Ak dôjde k rozliatiu pufrov súpravy, vyčistite ho vhodným laboratórnym čistiacim prostriedkom a vodou. Ak rozliata kvapalina obsahuje potenciálne infekčné činidlá, vyčistite postihnuté miesto najskôr laboratórnym čistiacim prostriedkom a vodou a potom 1 % (v/v) chlórnanom sodným.

Vzorky sú potenciálne infekčné. Odpad vzoriek a testov likvidujte podľa miestnych bezpečnostných postupov.

Núdzové informácie

CHEMTREC

USA a Kanada 1-800-424-9300

Mimo USA a Kanady +1 703-527-3887

Preventívne opatrenia

Na používanie súčastí súpravy QIASymphony DSP Circulating DNA Kit sa vzťahujú nasledujúce bezpečnostné vyhlásenia a preventívne opatrenia.

MBS3

Sodium azide

Obsahuje: Azid sodný. Varovanie! Môže byť škodlivý pri požití. Ak sa necítite dobre, volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára.

Proteinase K



Obsahuje: Proteinázu K. Nebezpečenstvo! Spôsobuje mierne podráždenie pokožky. Pri vdýchnutí môže vyvolať alergiu alebo príznaky astmy alebo dýchacie ťažkosti. Vyhnite sa vdychovaniu prachu/dymu/plynu/oparu/pár/aerosólov. Obsah/obal zlikvidujte v schválenom zariadení na zber a likvidáciu odpadov. V prípade respiračných symptómov: Volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. PRI VDÝCHNUTÍ: Ak je dýchanie ťažké, preneste postihnutého na čerstvý vzduch a ponechajte ho v pokoji v polohe pohodlnej na dýchanie. Používajte respiračnú ochranu.

QSW9



Obsahuje: etanol. Nebezpečenstvo! Spôsobuje závažné podráždenie očí. Veľmi horľavá kvapalina a výpary. Obsah/obal zlikvidujte v schválenom zariadení na zber a likvidáciu odpadov. Ak podráždenie očí pretrváva: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. Uchovávajte mimo dosahu tepla/iskier/otvoreného ohňa/horúcich povrchov. – Nefajčite. Skladujte na dobre vetranom mieste. Skladujte v chlade. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ ochranu tváre.

Likvidácia

Odpad obsahuje vzorky a reagentie. Tento odpad môže obsahovať toxické alebo infekčné materiály a musí byť riadne zlikvidovaný. Pri likvidácii postupujte v súlade s miestnymi bezpečnostnými predpismi.

Ďalšie informácie nájdete v príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ). Tieto materiály sú k dispozícii online vo formáte PDF na adrese www.qiagen.com/safety, kde môžete vyhľadať, zobrazit' a vytlačiť SDS pre každú súpravu QIAGEN a jej súčasti.

Skladovanie a manipulácia s reagensiami

Súpravu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit skladujte vzpriamene pri izbovej teplote (15 – 25 °C). Magnetické častice v reagenčných kazetách zostávajú aktívne, keď sa skladujú pri tejto teplote.

Súpravy QIASymphony DSP Circulating DNA Kit obsahujú roztok proteinázy K pripravený na použitie, ktorý je možné skladovať pri izbovej teplote.

Poznámka: Štítko na škatuli súpravy QIASymphony DSP Circulating DNA Kit zobrazuje dátum expirácie súpravy. Súbor s výsledkami dokumentuje dátumy expirácie iba pre reagenčnú kazetu.

Súpravu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit nepoužívajte po dátume expirácie.

Stabilita pri používaní

Čiastočne použité reagenčné kazety je možné skladovať maximálne 4 týždne vo zvislej polohe pri izbovej teplote (15 – 25 °C), čo umožňuje nákladovo efektívne opätovné použitie reagensí a flexibilnejšie spracovanie vzoriek. Ak je reagenčná kazeta čiastočne použitá, nasadte späť kryt vaničky obsahujúcej magnetické častice a reagenčnú kazetu utesnite dodanými tesniacimi prúžkami na opätovné použitie ihneď po ukončení spracovania protokolu, aby nedošlo k odpareniu.

Aby sa zabránilo odparovaniu reagensie, reagenčná kazeta by mala byť otvorená maximálne 15 hodín (vrátane časov spracovania) pri maximálnej teplote prostredia 32 °C. Nesprávne skladovanie častí súpravy môže viesť k rýchlejšiemu starnutiu pufrov.

Spracovanie dávok s nízkym počtom vzoriek (< 24) zvýši čas otvorenia reagenčnej kazety (RC) aj požadované objemy pufru, čo potenciálne zníži celkový možný počet príprav vzoriek na kazetu.

Zabráňte vystaveniu reagenčných kaziet UV žiareniu (napr. použitie na dekontamináciu), pretože vystavenie môže spôsobiť zrýchlené starnutie reagenčných kaziet a pufrov.

Odber a skladovanie vzoriek a manipulácia s nimi

Viac informácií o automatizovanom postupe (vrátane informácií o skúmavkách na vzorky, ktoré je možné použiť so špecifickými protokolmi), skladovaní vzoriek, manipulácii s nimi a konkrétnych predbežných úpravách vzoriek nájdete v príslušnom protokolovom hárku a zozname laboratórneho vybavenia, ktoré sa nachádzajú v záložke zdrojov na strane výrobu na adrese www.qiagen.com.

Postup

Automatizovaná purifikácia na QIASymphony SP

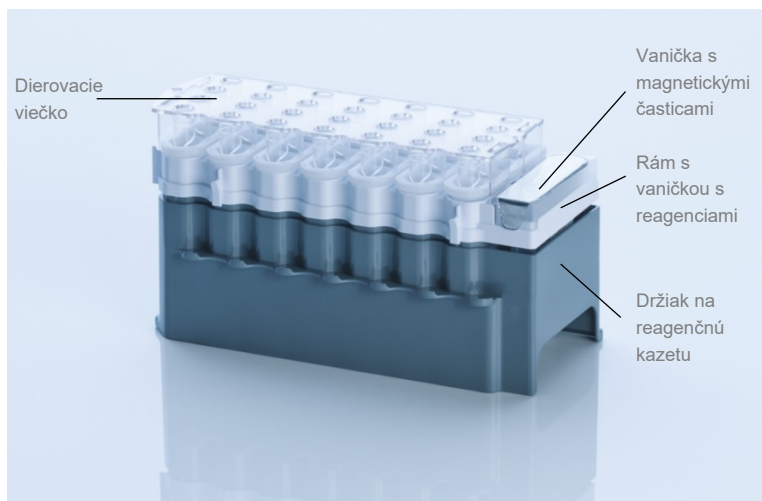
Vďaka QIASymphony SP je automatizovaná príprava vzoriek ľahká a pohodlná. Vzorky, reagentie a spotrebný materiál a eluáty sú oddelené do rôznych zásuviek. Pred cyklom jednoducho vložte vzorky, reagentie dodané v špeciálnych kazetách a vopred zabalený spotrebný materiál do príslušnej zásuvky. Spustíte protokol a po spracovaní odstránite purifikovanú DNA zo zásuvky „Eluate“ (Eluát). Pokyny na obsluhu nájdete v používateľských príručkách dodaných s prístrojom.

Poznámka: Voliteľná údržba nie je pre funkciu prístroja povinná, ale dôrazne sa odporúča, aby sa znížilo riziko kontaminácie.

Ponuka dostupných protokolov sa neustále rozširuje a ďalšie protokoly QIAGEN si môžete bezplatne stiahnuť na adrese www.qiagen.com/goto/dsphandbooks v záložkách zdrojov pre jednotlivé súpravy.

Naloženie reagenčnej kazety do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagentie a spotrebný materiál)

Reagentie na purifikáciu DNA sa nachádzajú v inovatívnej reagenčnej kazete (obrázok 2, strana 17). Každá vanička reagenčnej kazety obsahuje konkrétnu reagentiu, ako sú magnetické častice, viazací pufer, premývací pufer alebo elučný pufer. Čiastočne použité reagenčné kazety je možné opätovne uzavrieť tesniacimi pásikmi na opakované použitie na neskoršie opätovné použitie, čím sa zabráni tvorbe odpadu v dôsledku zvyškov reagentií na konci procesu purifikácie.



Obrázok 2. Reagenčná kazeta QIASymphony. Reagenčná kazeta obsahuje všetky reagenencie potrebné na spracovanie protokolu.

Pred začatím postupu sa uistite, že magnetické častice sú úplne resuspendované. Vyberte vaničku s magnetickými časticami z rámu reagenčnej kazety, intenzívne ho vortexujte najmenej 3 minúty a pred prvým použitím ho vložte späť do rámu reagenčnej kazety.

Poznámka: Magnetické častice môžu zmeniť farbu. Toto nemá žiadny vplyv na ich vlastnosti.

Vložte reagenčnú kazetu do držiaka reagenčnej kazety. Pred prvým použitím reagenčnej kazety položte dierovacie viečko na vrch reagenčnej kazety (obrázok 2 vyššie).

Poznámka: Dierovacie viečko je ostré. Buďte opatrní, keď ho ukladáte na reagenčnú kazetu. Uistite sa, že ste dierovacie viečko nasadili na reagenčnú kazetu v správnej polohe.

Po odobratí krytu vaničky s magnetickými časticami sa reagenčná kazeta následne vloží do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagenencie a spotrebný materiál).

Čiastočne použité reagenčné kazety je možné skladovať, kým ich opäť nebudete potrebovať (pozri „Skladovanie a manipulácia s reagensiami“ strana 14).

Poznámka: Proteináza K sa musí pridať v súlade s informáciami uvedenými v protokolovom hárku v záložke zdrojov na strane výrobku na adrese www.qiagen.com.

Poznámka: Uistite sa, že reagenčné kazety, vaničky s magnetickými časticami a fľaše s proteinázou K sa nezamenia medzi rôznymi šaržami súpravy.

Naloženie plastového vybavenia do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál)

Kazety na prípravu vzoriek, kryty 8-Rod Covers (obidve vopred zabalené v jednotkových nádobách) a jednorazové filtračné hroty (200 µl hroty dodávané v modrých stojanoch, 1500 µl hroty dodávané v čiernych stojanoch) sú vložené do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál).

Poznámka: Pred naložením jednotkových nádob do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál) sa uistite, že sú odstránené kryty jednotkových nádob.

Poznámka: Hroty majú filtre, ktoré zabraňujú krížovej kontaminácii.

Sloty na stojany na hroty na pracovnom stole QIASymphony SP je možné naplniť ktorýmkoľvek typom stojanu na hroty. QIASymphony SP identifikuje typ hrotov načítaných počas skenovania inventáru.

Poznámka: Pred začatím ďalšieho protokolu znovu nenapĺňajte stojany na hroty alebo jednotkové nádoby pre kazety na prípravu vzoriek alebo kryty 8-Rod Covers. QIASymphony SP môže používať čiastočne použité stojany na hroty a jednotkové nádoby.

Potrebný spotrebný materiál nájdete v príslušnom protokolovom hárku, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na strane výrobku na adrese www.qiagen.com. Informácie o objednávaní plastového vybavenia nájdete na strane 35.

Naloženie zásuvky „Waste“ (Odpad)

Kazety na prípravu vzoriek a kryty 8-Rod Covers použité počas spracovania sú opätovne uložené v prázdnych jednotkových nádobách v zásuvke „Waste“ (Odpad). Uistite sa, že zásuvka „Waste“ (Odpad) obsahuje dostatok prázdnych jednotkových nádob pre plastový odpad generovaný počas spracovania protokolu.

Poznámka: Pred naložením jednotkových nádob do zásuvky „Waste“ (Odpad) sa ubezpečte, že sú odstránené kryty jednotkových nádob. Ak používate boxy krytu 8-Rod Cover na zber použitých kaziet na prípravu vzoriek a kryty 8-Rod Covers, skontrolujte, či bola odstránená dištančná vložka boxu.

Vrečko na likvidáciu hrotov s filtrom musia byť pripojené k prednej strane zásuvky „Waste“ (Odpad).

Poznámka: Prítomnosť vrečka na likvidáciu hrotov systém nekontroluje. Pred spustením spracovania protokolu sa uistite, že vrečko na likvidáciu hrotov je správne pripevnené. Ďalšie informácie nájdete v príručkách používateľa dodaných s prístrojom. Po spracovaní maximálne 96 vzoriek vrečko s hrotmi vyprázdňte, aby nedošlo k zaseknutiu hrotov.

Odpadová nádoba zhromažďuje kvapalný odpad vznikajúci počas procesu purifikácie. Zásuvku „Waste“ (Odpad) je možné zatvoriť len vtedy, ak je zásobník na odpad na svojom mieste. Kvapalný odpad likvidujte podľa miestnych predpisov o bezpečnosti a ochrane životného prostredia. Naplnenú fľašu na odpad nesterilizujte v autokláve. Najneskôr po spracovaní maximálne 96 vzoriek vyprázdňte fľašu na odpad.

Naloženie zásuvky „Eluate“ (Eluát)

Naložte požadovaný elučný stojan do zásuvky „Eluate“ (Eluát). Pretože dlhodobé skladovanie eluátov v zásuvke „Eluate“ (Eluát) môže viesť k odparovaniu eluátov, musí sa používať chladiaca poloha. Používajte len „Elution slot 1“ (Blok na elúcie 1) s príslušným chladiacim adaptérom.

Skenovanie inventáru

Pred spustením spracovania prístroj skontroluje, či bol do príslušných zásuviek vložený dostatočný spotrebný materiál pre dávku(y) v poradí.

Príprava materiálu vzorky

Súpravy QIASymphony DSP Circulating DNA Kits sú navrhnuté na automatickú purifikáciu cirkulujúcej bezbunkovej ľudskej DNA z ľudskej plazmy a moču.

Zabráňte tvorbe peny vo vzorkách alebo na nich. Pena na vzorkách môže spôsobiť pipetovanie nesprávneho objemu vzorky. V závislosti od východiskového materiálu môže byť potrebné predbežné ošetrenie vzorky. Vzorky musia byť pred začiatkom testu ekvilibrované na izbovú teplotu (15 – 25 °C).

Viac informácií o automatizovanom postupe (vrátane informácií o skúmavkách na vzorky, ktoré je možné použiť so špecifickými protokolmi) a konkrétnych predbežných úpravách vzoriek nájdete v príslušnom protokolovom hárku, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na strane výrobku na adrese www.qiagen.com.

Skladovanie DNA

Poznámka: Stabilita eluátu väčšinou závisí od rôznych faktorov a súvisí s konkrétnou následnou aplikáciou. Bola stanovená pre súpravu QS DSP Circulating DNA Kit v spojení s príkladmi následných aplikácií. Používateľ je zodpovedný za to, aby si preštudoval návod na použitie konkrétnej následnej aplikácie používanej v jeho laboratóriu a/alebo overil celý pracovný postup s cieľom stanoviť vhodné podmienky skladovania.

Po príprave vzorky sa eluáty môžu skladovať pri teplote 2 – 8 °C až 1 mesiac a pri teplote – 20 °C alebo – 80 °C až 2 mesiace. Zmrazené eluáty sa nesmú rozmraziť viac ako trikrát.

Protokol: Purifikácia cirkulujúcej bezbunkovej DNA

Prehľad protokolu

Tabuľka 1. Prehľad protokolu

Vzorka	Objem vzorky (μl)	Elučný objem (μl)	Protokol QIASymphony SP
Plazma, moč	2000	60	circDNA_2000_DSP
Plazma, moč	4000	60	circDNA_4000_DSP

Podrobné informácie sú uvedené v protokole, hárkoch a v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na strane výrobku na adrese www.qiagen.com.

Toto je všeobecný protokol pre použitie súprav QIASymphony DSP Kit. Detailné informácie pre každý protokol vrátane objemov a skúmaviek sú uvedené v protokolových hárkoch, ktorá nájdete v záložke zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com.

Dôležité body pred začatím činnosti

- Uistite sa, že ste oboznámení s ovládaním QIASymphony SP. Pokyny na obsluhu nájdete v používateľských príručkách dodaných s prístrojom.
- Voliteľná údržba nie je pre funkciu prístroja povinná, ale dôrazne sa odporúča, aby sa znížilo riziko kontaminácie.
- Pred začatím spracovania si prečítajte „Popis a princíp“, strana 5.
- Uistite sa, že ste oboznámení s protokolovým hárkom zodpovedajúcim postupu, ktorý chcete použiť. (Protokolové háry nájdete v záložke zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com.)
- Snažte sa zabrániť intenzívnemu pretrepávaniu reagenčnej kazety, inak by mohlo dôjsť k tvorbe peny, ktorá môže viesť k problémom s detekciou hladiny kvapaliny.

Pred spustením predbežnej úpravy, ktorá vyžaduje Buffer ATL, skontrolujte, či sa v Buffer ATL nevytvoril precipitát. V prípade potreby rozpustíte ho zahriatím na 70 °C a za jemného miešania vo vodnom kúpeli. Nasajte bubliny z povrchu Buffer ATL.

Veci, ktoré je potrebné vykonať pred začatím

- Pred začatím postupu sa uistite, že magnetické častice sú úplne resuspendované. Pred prvým použitím intenzívne vortexujte vaničku obsahujúcu magnetické častice najmenej 3 minúty.
- Uistite sa, že dierovacie viečko nasadené na reagenčnej kazete a viečko vaničky na magnetické častice boli odstránené, alebo ak používate čiastočne použitú reagenčnú kazetu, skontrolujte, či tesniace pásky na opakované použitie boli odstránené.
- Proteináza K nie je zahrnutá do reagenčnej kazety, ale musí ju zabezpečiť používateľ (zásuvka na vzorky, slot A, poloha 1, 2 a/alebo 3). Uistite sa, že je dostupný správny objem proteinázy K. (Detailné informácie nájdete v protokolovom hárku, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com).
- Ak sú vzorky označené čiarovým kódom, orientujte vzorky v držiaku skúmaviek tak, aby boli čiarové kódy otočené smerom k čítačke čiarových kódov na ľavej strane QIASymphony SP.
- Informácie o skúmavkách na vzorky, ktoré sú kompatibilné s určitým protokolom, nájdete v príslušnom zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com.
- Informácie o minimálnych objemoch vzoriek pre sekundárne skúmavky nájdete v príslušnom zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com.

Postup

1. Zatvorte všetky zásuvky a kryt.
2. Zapnite QIASymphony SP a počkajte, kým sa zobrazí obrazovka **Sample Preparation** (Príprava vzorky) a kým sa inicializačný postup neskončí.
Vypínač sa nachádza v ľavom dolnom rohu QIASymphony SP.
3. Prihláste sa do prístroja.
4. Naložte požadovaný elučný stojan do zásuvky „Eluate“ (Eluát).
Nevkladajte 96-jamkovú platničku do „Elution slot 4“ (Blok na elúcie 4). Musí sa použiť „Elution slot 1“ (Blok na elúcie 1) s príslušným chladiacim adaptérom.
Pri použití 96-jamkovej doštičky sa uistite, že je správne orientovaná, pretože nesprávne umiestnenie môže spôsobiť zámenu vzoriek pri následnej analýze.
Ak používate stojan Elution Microtubes CL, odstráňte spodok otočením stojana, kým sa spodná časť neoddelí.
5. Uistite sa, že zásuvka „Waste“ (Odpad) je správne pripravená a vykonajte kontrolu zásob zásuvky „Waste“ (Odpad) vrátane žľabu na hroty a kvapalného odpadu. V prípade potreby vymeňte vrečko na likvidáciu hrotov.
6. Naložte požadovanú reagenčnú kazetu(y) a spotrebný materiál do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál).
7. Vykonajte skenovanie inventáru zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál).
8. Vložte vzorky do príslušného nosiča na vzorky a vložte ich do zásuvky „Sample“ (Vzorka).
9. Pomocou dotykovej obrazovky zadajte požadované informácie pre každú dávku vzoriek a pre proteínázu K, ktoré majú byť spracované.
Zadajte nasledujúce informácie:
 - Informácie o vzorke (v závislosti od použitých stojanov na vzorky)
 - Protokol, ktorý sa má spustiť („Súbor kontroly testu“)
 - Elučný objem a výstupná poloha

Po zadaní informácií o dávke sa stav zmení z „LOADED“ (VLOŽENÝ) na „QUEUED“ (ZARADENÝ). Po zaradení jednej dávky sa objaví tlačidlo „Run“ (Spracovať).

10. Vložte proteínázu K do príslušného nosiča na vzorky do polohy 1, 2 a/alebo 3 a vložte ich do slotu A zásuvky „Sample“ (Vzorka).

11. Proteínázu K definujte stlačením tlačidla IC.

12. Stlačením tlačidla „Run“ (Spracovať) spustíte postup purifikácie.

Všetky kroky spracovania sú plne automatizované. Na konci spracovania protokolu sa stav dávky zmení z „RUNNING“ (SPRACOVANIE) na „COMPLETED“ (DOKONČENÉ).

13. Vyberte elučný stojan obsahujúci purifikované nukleové kyseliny zo zásuvky „Eluate“ (Eluát).

14. DNA je pripravená na použitie alebo sa môžu uskladniť pri teplote 2 – 8 °C, –20 °C alebo –80 °C.

Eluátovú doštičku odporúčame vybrať zo zásuvky „Eluate“ (Eluát) ihneď po ukončení chodu. V závislosti od teploty a vlhkosti môžu elučné doštičky, ktoré zostanú QIASymphony SP po dokončení cyklu podliehať kondenzácii alebo odparovaniu.

Vo všeobecnosti sa magnetické častice neprenášajú do eluátov. Ak dôjde k prenosu, neovplyvnia magnetické častice v eluátoch väčšinu následných aplikácií.

Ak sa musia magnetické častice pred vykonaním následných aplikácií odstrániť, musia sa najprv skúmavky, alebo platničky obsahujúce eluáty umiestniť na vhodný magnet a eluáty sa prenású do čistej skúmavky (pozri „Sprievodca riešením problémov“, strana 29).

Súbory s výsledkami sa generujú pre každú elučnú platničku.

15. Ak je reagenčná kazeta použitá iba čiastočne, utesnite ju dodanými tesniacimi páskami na opakované použitie po skončení spracovania protokolu, aby nedošlo k odpareniu.

Poznámka: Ďalšie informácie o skladovaní čiastočne použitých reagenčných kaziet nájdete v časti „Skladovanie a manipulácia s reagensiami“, strana 14.

16. Použité skúmavky a odpad likvidujte podľa miestnych bezpečnostných predpisov.

Na strane 11 nájdete „Varovania a preventívne opatrenia“ s bezpečnostnými informáciami.

17. Vyčistite QIASymphony SP.

Postupujte podľa pokynov na údržbu uvedených v používateľských príručkách dodávaných s prístrojom. Nezabudnite pravidelne čistiť kryty hrotov, aby ste minimalizovali riziko krížovej kontaminácie.

18. Zatvorte zásuvky prístroja a vypnite QIASymphony SP.

Kontrola kvality

V súlade s certifikovaným systémom riadenia kvality QIAGEN ISO je každá dávka súpravy QIASymphony DSP Circulating DNA Kit testovaná na základe vopred určených špecifikácií, aby bola zaistená konzistentná kvalita výrobu.

Obmedzenia

Vlastnosti systému boli stanovené počas hodnotiacich štúdií purifikácie ľudskej ccfDNA z ľudskej plazmy a moču.

Používateľ je zodpovedný za overenie výkonu systému pre všetky postupy používané v jeho laboratóriu, na ktoré sa nevzťahujú hodnotiace štúdie výkonnosti QIAGEN.

Aby sa minimalizovalo riziko negatívneho vplyvu na diagnostické výsledky, mali by sa použiť adekvátne kontroly pre následné aplikácie. Pre ďalšiu validáciu platia usmernenia z Medzinárodnej konferencie o harmonizácii technických požiadaviek (ICH) v Odporúča sa dokument *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*.

Všetky získané diagnostické výsledky sa musia interpretovať v spojení s inými klinickými alebo laboratórnymi nálezmi.

Charakteristiky účinnosti

(Platné charakteristiky účinnosti nájdete v záložke zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com).

Spríevodca riešením problémov

Tento sprievodca riešením problémov môže byť užitočný pri riešení akýchkoľvek problémov, ktoré môžu nastať. Viac informácií nájdete aj na stránke Často kladené otázky v našom stredisku technickej podpory: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Vedci v technických službách QIAGEN vám vždy radi zodpovedajú všetky otázky týkajúce sa informácií a/alebo protokolov v tejto príručke alebo technológií vzoriek a testov (kontaktné informácie nájdete na stránke www.qiagen.com).

Komentáre a návrhy

Všeobecná manipulácia

Chybové hlásenie zobrazené na dotykovej obrazovke Ak sa počas chodu protokolu zobrazí chybové hlásenie, pozri používateľské príručky dodávané s prístrojom.

Precipitát vo vaničke reagencie otvorenej kazety súpravy QIASymphony DSP

- | | |
|----------------------------------|---|
| a) Odparovanie pufra | Nadmerné odparovanie môže viesť k zvýšeniu koncentrácie solí v pufroch. Reagenčnú kazetu zlikvidujte. Nezabudnite uzavrieť vaničky s puframi čiastočne použitej reagenčnej kazety pomocou tesniacich pásov na opakované použitie, ak sa nepoužili na purifikáciu. |
| b) Skladovanie reagenčnej kazety | Skladovanie reagenčnej kazety pod teplotou 15 °C môže viesť k vzniku precipitátov. |

Nízky výťažok DNA

- | | |
|---|--|
| a) Magnetické častice neboli úplne resuspendované | Pred začatím postupu sa uistite, že magnetické častice sú úplne resuspendované. Pred použitím vortexujte aspoň 3 minúty. |
| b) Zanesenie hrotu pipety nerozpustným materiálom | Nerozpustný materiál nebol zo vzorky odstránený pred začatím procesu purifikácie QIASymphony.
V prípade potreby využite postup predbežnej úpravy popísaný v príslušnom protokolovom háčku, ktorý nájdete v záložke zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com . |
| c) Materiál vzorky obsahuje nízku koncentráciu ccfDNA | Kvôli veľmi nízkym množstvám ccfDNA v materiáli vzorky je možné detegovať koncentráciu DNA v závislosti od použitej kvantifikačnej metódy.
Na kontrolu koncentrácie DNA v eluátoch sa odporúča použiť citlivý test qPCR. |
| d) Neúplné opätovné uzavretie reagenčnej kazety | Výmena s okolitým vzduchom môže viesť k zníženej stabilite pufrov, čo bude mať za následok zníženú účinnosť extrakcie ccfDNA s čiastočne použitou reagenčnou kazetou. Nezabudnite dôkladne uzavrieť vaničky s puframi čiastočne použitej reagenčnej kazety pomocou tesniacich pásov na opakované použitie, ak sa nepoužili na purifikáciu. |

Komentáre a návrhy

- | | | |
|----|---|---|
| e) | Rýchla degradácia ccfDNA v nestabilizovanej vzorke moču | <p>Kvôli rýchlej degradácii ccfDNA v nestabilizovaných vzorkách moču po odobratí vzorky je možné detegovať žiadnu/nízkú koncentráciu DNA v eluátoch. Odporúča sa stabilizovať vzorku moču podľa popisu v príslušnom protokolovom háрку.</p> <p>Prípadne hneď po odobratí a centrifugácii podrobte vzorku moču predbežnej úprave pomocou ATL a následnej extrakcii DNA v prístroji podľa popisu v príslušnom protokolovom háрку.</p> |
|----|---|---|

Žiadny/neúplný prenos vzorky

- | | | |
|----|----------------------------------|---|
| a) | Vloží sa nesprávny objem vzorky | <p>Ak sa vloží menší objem vzorky ako 2,4 ml a 4,5 ml, zvyšuje sa riziko nejasného príznaku vzorky.</p> <p>Ak sa vloží menší objem vzorky ako 1,4 ml a 3,6 ml, zvyšuje sa riziko nejasného príznaku vzorky alebo neprebehne prenos vzorky.</p> <p>Vložte správny objem vzorky podľa popisu v príslušnom zozname laboratórneho vybavenia. Ak nie je k dispozícii dostatočná vzorka, pridajte do nej PBS a doplňte želaný objem vzorky pred jej vložením.</p> |
| b) | Bublinky a/alebo pena v skúmavke | <p>Bublinky alebo pena vo vzorke a/alebo vo vstupe na vzorky môže mať za následok nesprávnu detekciu hladiny tekutiny a následne neúplný prenos vzorky. Odstráňte bublinky zo skúmavky.</p> |

Bublinky na hrotoch viditeľné počas cyklu prístroja

Použitie laboratórneho vybavenia FIX v kombinácii so zníženým vstupným objemom vzorky

Ak sa pomocou laboratórneho vybavenia FIX vloží objem vzorky menší ako 2,1 ml a 4,1 ml v tomto poradí, zvyšuje sa riziko zníženého prenosu objemu vzorky, ktorý prístroj nedokáže detegovať. To môže mať za následok tvorbu bublínok počas prenosu vzorky a/alebo následného viazania.

Vložte správny objem vzorky podľa popisu v príslušnom zozname laboratórneho vybavenia FIX. Ak nie je k dispozícii dostatočná vzorka, pridajte do nej PBS a doplňte želaný objem vzorky pred jej vložením.

V eluáte je viditeľná hnedá peleta

Prenikanie guľôčok do eluátu












Ak dôjde k prenosu guľôčok, neovplyvnia magnetické častice v eluátoch väčšinu následných aplikácií.





Ak sa musia odstrániť magnetické častice, vložte skúmavku obsahujúcu DNA do vhodného magnetického separátora, kým sa magnetické častice neoddelia.

Ak nie je vhodný magnetický separátor k dispozícii, centrifugujte skúmavku s DNA 1 minútu pri plnej rýchlosti v mikrocentrifúge, aby sa všetky zvyšné magnetické častice zgranulovali.

Symbols

Nasledujúce symboly nájdete v návode na použitie alebo na balení a štítkoch:

Symbol	Definícia symbolu
 Σ <N>	Obsahuje reagencie postačujúce na <N> reakcií
	Použite do
	Tento výrobok spĺňa požiadavky európskeho nariadenia 2017/746 pre diagnostické zdravotnícke pomôcky in vitro.
	Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro
	Katalógové číslo
	Číslo šarže
	Číslo materiálu (t. j. označenie komponentu)
	Komponenty
	Obsahuje
	Číslo
	Identifikátor GTIN (Global Trade Item Number)
Rn	R označuje revíziu návodu na použitie a n je číslo revízie

Symbol	Definícia symbolu
	Teplotné obmedzenia
	Výrobca
	Prečítajte si návod na použitie
	Varovanie/upozornenie
PROTK	Proteináza K
WELL	Číslo jamky (napr. jamka reagenčnej kazety)
REAG CART	Reagenčná kazeta
Sodium azide	Azid sodný
E1OH	Etanol
UDI	Jedinečný identifikátor pomôcky

Kontaktné informácie

Technickú pomoc a ďalšie informácie získate v centre technickej podpory na adrese www.qiagen.com/Support alebo na telefónnom čísle 00800-22-44-6000, alebo kontaktujte niektoré z oddelení technickej podpory spoločnosti QIAGEN (pozrite zadnú stranu alebo navštívte lokalitu www.qiagen.com).

Príloha: Kvantifikácia cirkulujúcej bezbunkovej DNA

Z dôvodu veľmi nízkych koncentrácií ccfDNA v materiáloch vzoriek sa neodporúča merať DNA pomocou spektrofotometra. Na stanovenie koncentrácie cirkulujúcej bezbunkovej DNA by sa mal použiť citlivý a presný kvantitatívny test na báze fluorescence alebo test PCR.

Informácie o objednávaní

Výrobok	Obsah	Kat. č.
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Obsahuje 2 reagenčné kazety a proteínázu K a príslušenstvo	937556
QIASymphony SP	Modul na prípravu vzorky QIASymphony, 1-ročná záruka na diely a prácu	9001297
Súvisiace výrobky		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml Buffer ATL na predbežnú úpravu vzoriek moču	939016
Proteinase K (10 ml)	1 x 10 ml fľaštička	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Držiak reagenčnej kazety na použitie s QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Chladiaci adaptér pre 2 ml skúmavky so skrutkovacím uzáverom. Na použitie v zásuvke QIASymphony „Eluate“ (Eluát)	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Chladiaci adaptér pre stojany EMT. Na použitie v zásuvke QIASymphony „Eluate“ (Eluát)	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Chladiaci adaptér pre 1,5 ml skúmavky Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock. Na použitie v zásuvke QIASymphony „Eluate“ (Eluát)	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8-jamkové kazety na prípravu vzoriek na použitie s QIASymphony SP	997002

Výrobok	Obsah	Kat. č.
8-Rod Covers (144)	8-Rod Covers na použitie s QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Jednorazové filtračné hroty, v stojane; (8 x 128). Na použitie s QIAcube® a QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Jednorazové filtračné hroty, v stojane; (8 x 128). Na použitie s QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Vrecká na likvidáciu na hrotov na použitie s QIASymphony SP	9013395
Reuse Seal Set (20)	Súpravy tesnení na opätovné použitie na utesnenie čiastočne použitých reagenčných kaziet QIASymphony	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Nesterilné polypropylénové skúmavky (maximálna kapacita 0,85 ml, skladovacia kapacita menej ako 0,7 ml, elučná kapacita 0,4 ml); 2304 v regáloch po 96; obsahuje viečkové prúžky	19588

Aktuálne licenčné informácie a právne informácie týkajúce sa výrobku nájdete v návode na použitie súpravy QIAGEN Kit. Návody na použitie súprav QIAGEN nájdete na stránke www.qiagen.com alebo o ne môžete požiadať oddelenie technických služieb spoločnosti QIAGEN alebo svojho miestneho distribútora.

História úprav dokumentu

Revízia	Popis
R1, jún 2022	<p>Verzia 2, revízia 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Aktualizácia na verziu 2 pre súlad s nariadením o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro• Aktualizácia dodávaných materiálov (pridanie aktívnych zložiek)• Aktualizácia varovaní a preventívnych opatrení• Aktualizácia skladovania a manipulácie s reagensiami• Pridanie oddielu Likvidácia <p>Aktualizácia sprievodcu riešením problémov (pridať prenos guľôčok)</p>

Táto strana je zámerne prázdna

Táto strana je zámerne prázdna

Táto strana je zámerne prázdna

Obmedzená licenčná zmluva pre súpravu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit

Použitie tohto výrobku predstavuje súhlas kupujúceho alebo používateľa tohto výrobku s nasledovnými podmienkami:

1. Výrobok sa môže používať výlučne v súlade s protokolmi poskytovanými spolu s výrobkom a týmto návodom na použitie a môže sa používať výlučne s komponentmi obsiahnutými v paneli. Spoločnosť QIAGEN neudeľuje žiadnu licenciu v rámci žiadneho zo svojich práv na ochranu duševného vlastníctva na používanie alebo spájanie komponentov tohto panela s akýmkoľvek komponentmi, ktoré netvoria súčasť tohto panela s výnimkou ustanovení uvádzaných v protokoloch dodávaných spolu s výrobkom, tomto návode na použitie v ďalších protokoloch, ktoré sú dostupné na adrese www.qiagen.com. Niektoré z týchto protokolov boli poskytnuté používateľmi výrobkov od spoločnosti QIAGEN pre používateľov výrobkov od spoločnosti QIAGEN. Tieto protokoly neboli podrobne testované ani optimalizované spoločnosťou QIAGEN. Spoločnosť QIAGEN na ne neposkytuje žiadne záruky a neručí za to, že ich použitím nedôjde k porušeniu práv tretích strán.
2. Iné než výslovne uvedené licencie – spoločnosť QIAGEN neposkytuje žiadnu záruku na to, že tento panel a/alebo jeho použitie neporuší práva tretích strán.
3. Tento panel a jeho komponenty sú licenčne poskytnuté na jednorazové použitie a nesmú sa opätovne používať, opravovať ani predávať.
4. Spoločnosť QIAGEN sa špecificky zrieka všetkých ostatných (výslovných alebo implicitných) licencií než tých, ktoré sú tu výslovne uvedené.
5. Kupujúci a používateľ tohto panela súhlasia s tým, že iným osobám neumožnia ani nepovolí vykonať žiadne kroky, ktoré by mohli viesť k akýmkoľvek činnostiam, ktoré sú zakázané vyššie, alebo k nim napomáhať. Spoločnosť QIAGEN môže uplatňovať príslušné zákazy uvádzané v tejto obmedzenej licenčnej zmluve pred akýmkoľvek súdom a bude požadovať všetky náklady na vyšetrovanie a súdne konania (vrátane nákladov na právne zastupovanie) pri každom takomto kroku s cieľom uplatniť ustanovenia tejto obmedzenej licenčnej zmluvy alebo práv duševného vlastníctva súvisiacich s panelom a/alebo jeho komponentmi.

Aktualizované licenčné podmienky nájdete na adrese www.qiagen.com.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAcube® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG), Registrované názvy, ochranné známky atď. použité v tomto dokumente sa nesmú považovať za známky nechránené podľa zákona, i keď neboli ako také označené príslušným symbolom.

Jún-2022 HB-3034-001 1127534SK © 2022 QIAGEN, všetky práva vyhradené.

Objednávky www.qiagen.com/shop | Technická podpora support.qiagen.com | Webová lokalita
www.qiagen.com