



Styczeń 2023 r.

QIAsymphony® DSP Circulating DNA Kit — Instrukcja użycia (Karta protokołu)

circDNA_1000_DSP_V1, circDNA_2000_DSP_V3 i circDNA_4000_DSP_V3

Wersja 2



Do diagnostyki in vitro

Do użytku z zestawem QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Niemcy

R2

Karta protokołu jest dostępna w wersji elektronicznej i można ją znaleźć na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com, na karcie materiałów źródłowych.

Informacje ogólne

Do diagnostyki in vitro.

Niniejszy protokół jest przeznaczony do wykonywania oczyszczania ludzkiego wolnokrążącego DNA ze świeżych lub zamrożonych próbek ludzkiego osocza lub moczu przy użyciu zestawu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit i aparatu QIASymphony SP.

Zestaw	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		
Nr katalogowy	937556		
Materiał próbki	Ludzkie osocze: <ul style="list-style-type: none">z próbek do pobierania krwi ze stabilizatorami profilu ccfDNA (np. próbek Cell-Free DNA BCT®, Streck®);z próbek do pobierania krwi bez stabilizatorów profilu ccfDNA (np. próbek z dodatkiem EDTA). Ludzki mocz: <ul style="list-style-type: none">ze stabilizatorami profilu cfDNA;bez stabilizatorów profilu cfDNA.		
Nazwa protokołu	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
Domyślny zestaw ustawień kontrolnych oznaczenia	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
Objętość elucji	60 µl	60 µl	60 µl
Wymagana wersja oprogramowania	Wersja 5.0 lub wyższa	Wersja 4.0 lub wyższa	Wersja 5.0 lub wyższa
Wymagana konfiguracja oprogramowania do zastosowań IVD	Profil domyślny 1	Profil domyślny 1	Profil domyślny 1

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 odpowiednimi kartami charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS), dostępnymi u producentów poszczególnych produktów.

Szuflada „Sample” (Próbka)

Typ próbki	Ludzkie osocze i ludzki mocz (patrz „Przygotowanie materiału próbki”)
Objętość próbki	Zależy od typu używanej próbki na próbki Aby uzyskać więcej informacji, należy zapoznać się z listą sprzętów laboratoryjnych dostępną na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com , na karcie materiałów źródłowych.
Próbki pierwotne	nd.
Próbki dodatkowe	Aby uzyskać więcej informacji, należy zapoznać się z listą sprzętów laboratoryjnych dostępną na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com , na karcie materiałów źródłowych.
Wkłady	Zależy od typu używanej próbki na próbki Aby uzyskać więcej informacji, należy zapoznać się z listą sprzętów laboratoryjnych dostępną na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com , na karcie materiałów źródłowych.
Inne	Proteinazę K należy dodać do gniazda A (pozycja 1, 2 i/lub 3)

nd. = nie dotyczy.

Przygotowanie proteiny K w szufladzie „Sample” (Próbka)

Zestaw QIASymphony DSP Circulating DNA Kit zawiera gotowy do użycia roztwór proteiny K, który można przechowywać w temperaturze pokojowej.

Uwaga: Butelek z proteiną K pochodzących z zestawów o różnych numerach serii nie należy używać wymiennie. Używać wyłącznie roztworu proteiny K dostarczonego z danym zestawem.

Uwaga: Probówki zawierające proteinę K są umieszczane w nośniku probówek. Probówka zawierająca proteinę K preferencyjnie powinna zostać umieszczona w pozycji nr 1. W przypadku kilku probówek należy je umieścić w pozycjach 1, 2 i/lub 3 gniazda A szuflady „Sample” (Próbka). Informacje na temat wymaganych typów probówek znajdują się na liście sprzętów laboratoryjnych dostępnej na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com, na karcie materiałów źródłowych.

Liczba próbek*	circDNA_1000_DSP (µl)	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1580	1980	2860
24	2540	3740	6380
48	3980	6380	11 660
72	5420	9020	18 040 [†]
96	6860	11 660	23 320 [†]

* Wymagana objętość dla każdej próbki to 60 µl w przypadku protokołu circDNA_1000_DSP, 110 µl w przypadku protokołu circDNA_2000_DSP lub 220 µl w przypadku protokołu circDNA_4000_DSP oraz dodatkowa objętość martwa wynosząca 1100 µl [(n x 60, 110 lub 220 µl) + 1100 µl].

[†] Protokół circDNA_4000_DSP: jeśli przetwarzanych jest więcej niż 48 próbek, należy użyć drugiej probówki. Maksymalna objętość ładowania na probówkę wynosi 11 660 µl. W przypadku użycia drugiej probówki wymagane jest uwzględnienie dodatkowej objętości martwej wynoszącej 1100 µl.

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

Pozycja A1 i/lub A2	Kaseta z odczynnikiem (Reagent Cartridge, RC)
Pozycja B1	nd.
Uchwyt na statyw na końcówki 1-18	Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 lub 1500 µl
Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4	Opakowania jednostkowe zawierające kasety do przygotowania próbek lub zamknięcia 8-Rod Covers

nd. = nie dotyczy.

Szuflada „Waste” (Odpady)

Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4	Puste opakowania jednostkowe
Uchwyt na worek na odpady	Worek na odpady
Uchwyt na butlę na odpady płynne	Butla na odpady płynne

Szuflada „Eluate” (Eluat)

Statyw elucji (zalecamy używanie gniazda 1, pozycji chłodzenia)	Aby uzyskać więcej informacji, należy zapoznać się z listą sprzętów laboratoryjnych dostępną na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com , na karcie materiałów źródłowych.
---	--

Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego

Protokół circDNA_1000_DSP

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†‡	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	64	120	176	232
Sample prep cartridges§	15	30	45	60
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 RC.

§ Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kaset do przygotowania próbek.

¶ Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-Rod Covers.

Protokół circDNA_2000_DSP

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†‡	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	64	120	176	232
Sample prep cartridges§	15	30	45	60
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 RC.

§ Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kaset do przygotowania próbek.

¶ Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-Rod Covers.

Protokół circDNA_4000_DSP

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†‡	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	104	200	298	394
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 RC.

§ Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kaset do przygotowania próbek.

¶ Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-Rod Covers.

Uwaga: W zależności od ustawień (na przykład liczby kontroli wewnętrznych używanych na partię) podane liczby końcówek z filtrem mogą się różnić od liczb wyświetlanych na ekranie dotykowym.

Objętość elucji

Wybrana objętość elucji

60 μ l

Początkowa objętość elucji

75 μ l

Objętość elucji jest wybierana na ekranie dotykowym. Średnia dostępna objętość elucji wynosi ≥ 60 μ l. W niektórych przypadkach końcowa objętość eluatu dla pojedynczych próbek może wynosić do 5 μ l mniej od wybranej objętości (np. 55 μ l). Zalecane jest, aby podczas korzystania z systemu zautomatyzowanej konfiguracji oznaczenia, który nie weryfikuje objętości eluatu przed jego przeniesieniem, sprawdzać rzeczywistą objętość eluatu.

Przechowywanie eluatów

Uwaga: Stabilność eluatu w dużym stopniu zależy od różnych czynników i odnosi się do konkretnej dalszej procedury analitycznej. Została ustalona dla zestawu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit używanego w ramach standardowych dalszych procedur analitycznych. Obowiązkiem użytkownika jest zapoznanie się z instrukcjami wykonywania konkretnej dalszej procedury analitycznej przeprowadzanej w jego laboratorium i/lub zwalidowanie całego przebiegu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) w celu ustalenia odpowiednich warunków przechowywania.

Zalecane jest, aby płytkę z eluatem wyciągnąć z szuflady „Eluate” (Eluat) natychmiast po zakończeniu cyklu przetwarzania. Płytki do elucji można zostawić w aparacie QIASymphony SP po zakończeniu cyklu przetwarzania na noc (maksymalnie na 16 godzin z uwzględnieniem czasu przetwarzania; zalecane warunki środowiskowe to: temperatura 18–26°C oraz wilgotność względna 20–75%). W zależności od temperatury i wilgotności eluat może ulegać kondensacji lub parowaniu.

Po przygotowaniu próbki eluaty można przechowywać w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 1 miesiąc oraz w temperaturze –20°C lub –80°C przez maksymalnie 2 miesiące. Zamrożonych eluatów nie należy rozmrażać więcej niż 3 razy.

Przygotowanie materiału próbki

Uwaga: Stabilność próbki w dużym stopniu zależy od różnych czynników i odnosi się do konkretnej dalszej procedury analitycznej. Została ustalona dla zestawu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit używanego w ramach standardowych dalszych procedur analitycznych. Obowiązkiem użytkownika jest zapoznanie się z instrukcjami wykonywania konkretnej dalszej procedury analitycznej przeprowadzanej w jego laboratorium i/lub zwalidowanie całego przebiegu pracy (z uwzględnieniem wszystkich procedur) w celu ustalenia odpowiednich warunków przechowywania.

Ludzkie osocze

Jeśli używane są próbki do pobierania krwi ze stabilizatorami profilu ccfDNA, podczas przygotowywania, przechowywania i transportu osocza oraz ogólnego postępowania z próbkami osocza należy przestrzegać instrukcji producenta tych próbek. W przypadku używania próbek do pobierania krwi bez stabilizatorów profilu ccfDNA oraz jeśli instrukcje dotyczące przygotowania, przechowywania i transportu próbek osocza oraz ogólnego postępowania z tymi próbkami zostały udostępnione przez dostawcę dedykowanej procedury badawczej, należy postępować zgodnie z nimi. Aby uzyskać więcej informacji, należy zapoznać się z normą *ISO 20186-3:2019 (E) Diagnostyczne badania molekularne in vitro — Specyfikacja procesów przedlaboratoryjnych badania pełnej krwi żyłnej – Część 3: Izolowane pozakomórkowe krążące DNA z osocza*.

Niezależnie od instrukcji producenta próbek do pobierania krwi, zgodnie z normą ISO 20186-3:2019 (E) należy wziąć pod uwagę następujące kwestie dotyczące zautomatyzowanej izolacji ccfDNA z osocza przy użyciu zestawu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit i aparatu QIASymphony SP.

Próbki krwi bez stabilizatorów profilu ccfDNA mogą być używane do przygotowania osocza (np. próbki pochodzące z próbek do pobierania krwi z dodatkiem EDTA). Osocze przygotowane z krwi pobranej do próbek z dodatkiem stabilizatora profilu ccfDNA również może być używane (np. próbki pochodzące z próbek Cell-Free DNA BCT firmy Streck).

W przypadku stosowania antykoagulantu w postaci EDTA lub cytrynianu zalecane jest wykonanie separacji osocza bezpośrednio po pobraniu krwi.

W przypadku niektórych dalszych procedur analitycznych może być konieczne wykluczenie kwasów nukleinowych pochodzących z pęcherzyków lub zminimalizowanie ich ilości. W takich przypadkach zaleca się wykonanie etapu wirowania z dużą prędkością przy 16 000 x g przez 10 minut w temperaturze pokojowej (15–25°C) po początkowym wytworzeniu osocza.

Po zebraniu i odwirowaniu osocze może być przechowywane w temperaturze pokojowej do 7 dni lub temperaturze 2–8°C do 14 dni. W celu długoterminowego przechowywania nawet do 24 miesięcy zalecane jest zamrożenie porcji osocza w temperaturze –20°C lub –80°C. Zamrożonego osocza nie należy rozmrażać więcej niż 3 razy. Wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie prowadzi do denaturacji i precipitacji białek, co może skutkować obniżeniem uzysku wolnokrążących kwasów nukleinowych. Zalecane jest, aby rozmrażać osocze w łaźni wodnej o temperaturze 30°C przez 30 minut. Jeśli w próbce widoczne są krioprecypitaty, należy je usunąć przed załadowaniem próbki do aparatu. Krioprecypitaty można rozpuścić, wytrząsając próbkę (należy upewnić się, że piana (jeśli pojawiła się na powierzchni próbki) została usunięta przed załadowaniem próbki do aparatu). Krioprecypitaty można również usunąć poprzez odwirowanie płynu i przeniesienie supernatantu bez naruszania osadu do próbki wtórnej (patrz lista sprzętów laboratoryjnych dostępna na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com, na karcie materiałów źródłowych). Należy natychmiast rozpocząć procedurę oczyszczania.

Ludzki mocz

Ze względu na szybką degradację ccfDNA tuż po pobraniu moczu zdecydowanie zalecane jest, aby natychmiast po pobraniu stabilizować próbkę. Podczas opracowywania zestawu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit wykorzystywano standardowe dalsze procedury analityczne w celu ustalenia odpowiednich zaleceń dotyczących postępowania z próbkami moczu oraz ich stabilizacji. Pomimo że obróbka przy użyciu niniejszego zestawu stanowi początkowy etap dla wielu dalszych procedur analitycznych, sposób postępowania z próbkami moczu musi zostać indywidualnie ustalony dla przepływu pracy z wykorzystaniem tych procedur, jako część procesu opracowywania konkretnej dalszej procedury analitycznej. W przypadku używania dostępnych na rynku stabilizatorów profilu cfDNA przeznaczonych dla próbek moczu należy postępować zgodnie z instrukcjami dostarczanymi przez ich producentów.

Stabilizowany ludzki mocz

Stabilizowany mocz może być przechowywany w temperaturze pokojowej (15–25°C) lub w temperaturze 2–8°C przez maksymalnie 7 dni. W celu długoterminowego przechowywania nawet do 24 miesięcy zalecane jest zamrożenie porcji osocza w temperaturze –20°C lub –80°C.

Stabilizowane próbki moczu nie wymagają przygotowania wstępnego. Po ustabilizowaniu zalecane jest odwirowanie próbek moczu przy niskiej prędkości (1900 x g) przez 10 minut w temperaturze pokojowej (15–25°C) w celu usunięcia komórek przed izolacją ccfDNA. Jeśli po odwirowaniu w supernatantach widoczne są precipitaty, należy ogrzać próbki w łaźni wodnej do temperatury 25°C w celu rozpuszczenia precipitatów. Przed rozpoczęciem cyklu przetwarzania należy przenieść stabilizowane próbki moczu do próbki wtórnej, którą następnie należy umieścić w nośniku próbek (patrz lista sprzętów laboratoryjnych dostępna na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com, na karcie materiałów źródłowych).

„Niestabilizowany” ludzki mocz

Przed rozpoczęciem protokołu, do którego wymagany jest odczynnik Buffer ATL, sprawdzić, czy w odczynniku Buffer ATL występuje precipitat. W razie potrzeby rozpuścić precipitat, podgrzewając bufor w łaźni wodnej ustawionej na temperaturę 70°C z delikatnym wstrząsaniem. Zaaspirować pęcherzyki na powierzchni odczynnika Buffer ATL.

Uwaga: Odczynnik Buffer ATL (4 x 50 ml, nr kat. 939016) nie jest częścią zestawu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit i należy go zamówić osobno.

Zalecane jest, aby natychmiast po zebraniu próbek moczu odwirować je przy niskiej prędkości (1900 x g) przez 10 minut w temperaturze pokojowej (15–25°C) w celu usunięcia komórek. Niestabilizowane próbki moczu wymagają przygotowania wstępnego.

Ważne: Przed procedurą przygotowania wstępnego próbki należy doprowadzić do temperatury pokojowej (15–25°C).

Ważne: Wirowanie oraz procedurę przygotowania wstępnego należy wykonać maksymalnie w ciągu 4 godzin od pobrania próbki moczu.

- Zmieszać 1500 µl moczu (protokół circDNA_1000_DSP), 2500 µl moczu (protokół circDNA_2000_DSP) lub 4500 µl moczu (protokół circDNA_4000_DSP) z odpowiednio 150 µl, 250 µl lub 450 µl odczynnika Buffer ATL.
- Inkubować próbki w temperaturze pokojowej (15–25°C) przez 1 godzinę.
- Odwirować próbki przy 1900 x g przez 10 minut w temperaturze pokojowej (15–25°C).
- Jeśli po odwirowaniu w supernatantach widoczne są precypitaty, należy ogrzać próbki w łaźni wodnej do temperatury 25°C w celu rozpuszczenia precypitatów.
- Przenieść supernatanty do probówki wtórnej, którą następnie należy umieścić w nośniku próbek (patrz lista sprzętów laboratoryjnych dostępna na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com, na karcie materiałów źródłowych).

Ważne: Stabilność i integralność ccfDNA w niestabilizowanych próbkach moczu jest ograniczona. Zalecane jest, aby na jeden cykl przetwarzania w aparacie QIASymphony ładować maksymalnie jedną partię próbek moczu liczącą 24 próbki w celu zminimalizowania czasu przebywania próbek w aparacie.

Ważne uwagi przed załadowaniem próbek

















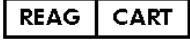
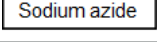


- Nie należy dopuszczać do wytworzenia piany w próbkach lub na ich powierzchni.
- Przed rozpoczęciem cyklu przetwarzania należy doprowadzić próbki do temperatury pokojowej (15–25°C).

Substancje zakłócające

Wysokie stężenie gamma-globulin (>30 g/l) w próbkach osocza może spowodować obniżenie odzysku wolnokrążącego DNA.

Symbole

Poniższe symbole znajdują się w instrukcji użycia lub na opakowaniu i etykietach:

Symbol	Definicja symbolu
	Zawiera odczynniki wystarczające do wykonania <N> reakcji
	Termin ważności
	Ten produkt spełnia wymogi rozporządzenia europejskiego 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki in vitro.
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Numer katalogowy
	Numer serii
	Numer materiału (tj. oznaczenie składnika)
	Składniki
	Zawiera
	Numer
	Globalny numer jednostki handlowej
Rn	R oznacza wydanie Instrukcji użycia, a n oznacza numer wydania
	Zakres temperatury
	Producent
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Ostrzeżenie/przestroga
	Proteinaza K
	Numer dołka (tj. dołek kasety z odczynnikiemami)
	Kaseta z odczynnikiemami
	Azydek sodu
	Etanol
	Niepowtarzalny identyfikator wyrobu

Historia zmian

Wydanie	Opis
R1, czerwiec 2022 r.	Wersja 2, wydanie 1 <ul style="list-style-type: none">W ramach wersji 2 zaktualizowano treść w celu zapewnienia zgodności z rozporządzeniem IVDRInformacje dotyczące postępowania z próbkami zostały zaktualizowane pod kątem zgodności z normą ISO 20186-3:2019 (E) Diagnostyczne badania molekularne in vitro — Specyfikacja procesów przedlaboratoryjnych badania pełnej krwi żyłnej – Część 3: Izolowane pozakomórkowe krążące DNA z osocza
R2, styczeń 2023 r.	Wersja 2, wydanie 2 <ul style="list-style-type: none">Dodano scenariusz BioScript dla próbek o objętości 1 ml (circDNA 1000 DSP)Zaktualizowano protokoły circDNA_2000 i circDNA_4000 do wersji V3

Aktualne informacje licencyjne oraz wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika odpowiedniego zestawu QIAGEN®. Instrukcje obsługi i podręczniki użytkownika zestawów QIAGEN są dostępne pod adresem 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); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały wyraźnie oznaczone jako zastrzeżone, nie należy uznawać za niechronione przepisami prawa.

01/2023 HB-3034-S01-002© 2022 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.