

Návod k použití sady QIASymphony[®] DSP Circulating DNA Kit (Příručka)



Verze 2



Pro diagnostické použití in vitro
Pro použití se sadou QIASymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Německo



1127534CS

Obsah

Účel použití.....	4
Určený uživatel.....	4
Popis a principy	5
Shrnutí a vysvětlení.....	7
Dodávané materiály	8
Obsah sady.....	8
Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky	9
Další reagentie	9
Spotřební materiály.....	9
Vybavení	10
Protokol a laboratorní vybavení.....	10
Varování a bezpečnostní opatření.....	11
Informace o bezpečnosti.....	11
Informace pro naléhavé případy.....	12
Bezpečnostní opatření	12
Likvidace	13
Skladování reagentií a manipulace s nimi	14
Stabilita při používání	14
Odběr, skladování vzorků a manipulace s nimi	15
Postup	16
Automatická purifikace na přístroji QIASymphony SP	16
Protokol: Purifikace cirkulující bezbuněčné DNA	21

Kontrola kvality	25
Omezení	25
Charakteristika funkčních vlastností	26
Řešení potíží	27
Symboly	29
Kontaktní údaje	31
Příloha: Kvantifikace cirkulující bezbuněčné DNA	32
Informace pro objednání	33
Historie revizí dokumentu	35

Účel použití

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA Kit využívá pro automatickou izolaci a purifikaci lidské cirkulující bezbuněčné DNA z biologických vzorků technologii magnetických částic.

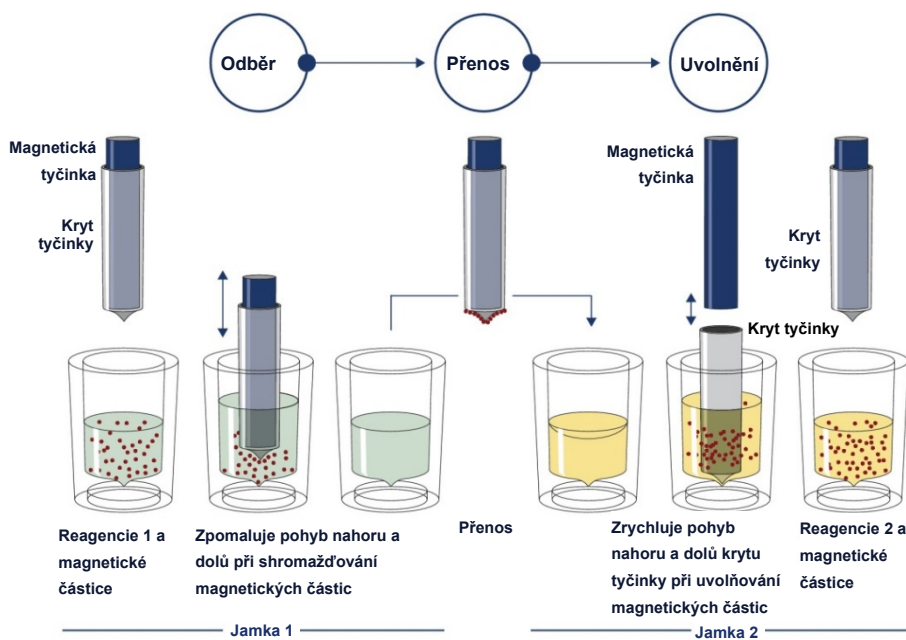
Sada QIASymphony DSP Circulating DNA Kit je určena pro diagnostické účely in vitro.

Určený uživatel

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA Kit je určena pro použití profesionálními uživateli, např. techniky a lékaři vyškolenými v technikách molekulární biologie.

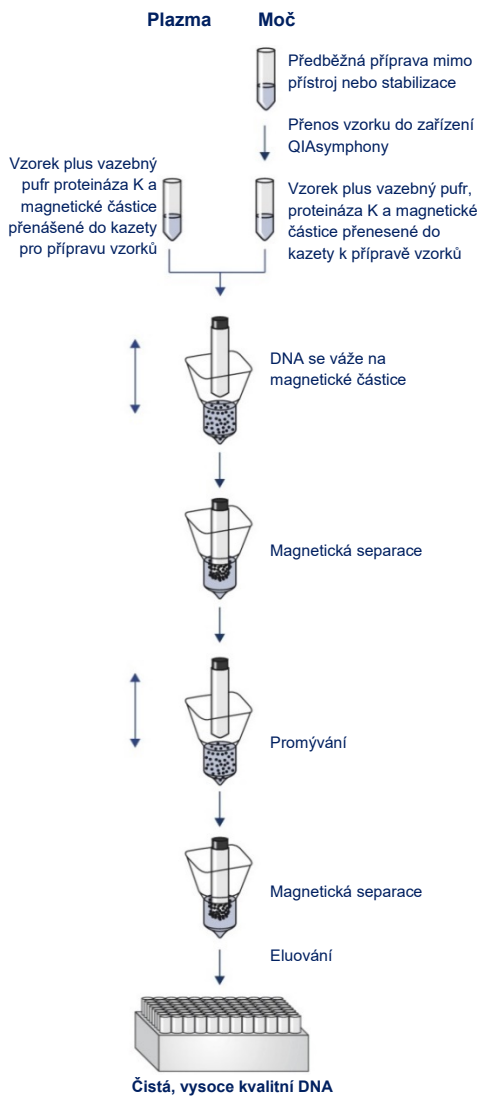
Popis a principy

Technologie QIAsymphony kombinuje rychlost a účinnost purifikace nukleové kyseliny na bázi výměny aniontů a pohodlnou manipulaci s magnetickými částicemi (obrázek 1 níže). Postup purifikace je určen k zajištění bezpečné a reprodukovatelné manipulace s potenciálně infekčními vzorky a zahrnuje 3 kroky: vázání, promývání a eluci (viz schéma na straně 6). Uživatel si může zvolit různé vstupní objemy vzorků.



Obrázek 1. Schématické znázornění principu činnosti zařízení QIAsymphony SP. Zařízení QIAsymphony SP zpracovává vzorek obsahující magnetické částice následujícím způsobem: magnetická tyčinka, chráněná krytem tyčinky, vstupuje do jamky obsahující vzorek a přitahuje magnetické částice. Kryt magnetické tyčinky se umístí nad jinou jamku a magnetické částice se uvolní. Tyto kroky se během zpracování vzorku několikrát opakují. Zařízení QIAsymphony SP používá magnetickou hlavu obsahující soupravu 24 magnetických tyčinek a může proto současně zpracovávat až 24 vzorků.

Postup práce se sadou QIASymphony DSP



Shrnutí a vysvětlení

Cirkulující bezbuněčné nukleové kyseliny (ccfNA) jsou přítomny v plazmě nebo moči obvykle jako krátké fragmenty, < 1 000 bp (DNA) a < 1 000 nt (RNA). Koncentrace ccfNA v biologických tekutinách, jako je plazma nebo moč, je obvykle nízká a mezi jednotlivými osobami je značně rozdílná. U ccfNA se koncentrace může pohybovat od 1 do 100 ng/ml. Systém QIASymphony DSP Circulating DNA představuje in-vitro systém připravený k použití pro kvalitativní purifikaci lidské cirkulující bezbuněčné DNA (ccfDNA) z lidské plazmy a moči pomocí přístroje QIASymphony SP.

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA Kit nabízí reagentie pro plně automatizovanou a současně prováděnou purifikaci lidské ccfDNA z lidské plazmy a moči. Charakteristika funkční vlastností jednotlivých zkumavek pro odběr krve nebyla stanovena, uživatel ji musí validovat sám. Technologie magnetických částic umožňuje purifikaci vysoce kvalitních nukleových kyselin, které neobsahují bílkoviny, nukleázy ani jiné nečistoty. Purifikovaná ccfDNA je kompatibilní s širokou řadou navazujících aplikací. Přístroj QIASymphony SP provádí všechny kroky postupu purifikace. V jednom zpracování se zpracovává až 96 vzorků v šaržích po 24. Vzorky moči mohou vyžadovat ruční předběžnou úpravu vzorku.

Dodávané materiály

Obsah sady

Sada QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit

(192)

Katalogové č.

937556

Počet reakcí

192

Zkratky	Označení	Množství	Účinné přísady	Koncentrace [%]*
RC	Reagent cartridge (Kazeta s reagensy)† REAG CART	2	Neiontový detergent Magnetická částice pro výměnu aniontů NaOH Etanol	≥ 0,5 až < 10 [hm/hm] – ≥ 0,05 až < 0,1 [hm/hm] ≥ 70 až < 90 [obj/obj]
PROTK PROTK	QIAGEN Proteinase K (Proteináza K QIAGEN)	6 × 10 ml	Proteináza K	≥ 1 až < 3 % [hm/hm]
PL	Piercing lid (Děrovací víčko)	2	–	–
RSS	Reuse Seal Set (Opětovně použitelná uzavírací sada)‡	2	–	–
	Návod k použití (Příručka)	1	–	–

* Maximální koncentrace v jedné jamce.

† Obsahuje azid sodný jako konzervační látku.

‡ Opakovaně použitelná uzavírací sada Reuse Seal Set obsahuje 8 uzavíracích proužků pro opakované použití.

Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky

Při manipulaci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní pracovní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (BL), které lze získat od dodavatele produktu.

Další reagensie

- Pufr Buffer ATL (k přípravě vzorků moči, kat. č. 939016)
- Fosfátem pufovaný fyziologický roztok ((Phosphate-buffered saline, PBS) může být potřebný pro doplňování objemu vzorků)

Další informace potřebné pro předúpravu a stabilizaci vzorků moči jsou uvedeny v listu protokolu, který lze nalézt na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.

Spotřební materiály

- Kazety Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (kat. č. 997002)
- Kryty 8-Rod Covers (kat. č. 997004)
- Špičky Filter-Tips, 200 µl a 1500 µl (kat. č. 990332 a 997024)
- Zkumavky na vzorky. Kompatibilní formáty odběrových a sekundárních zkumavek naleznete v seznamu laboratorního vybavení, který je k dispozici na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.
- Eluční zkumavky nebo destičky. Kompatibilní formáty pro eluční zkumavky a destičky jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.

Vybavení*

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

Protokol a laboratorní vybavení

Vedle příručky lze na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com nalézt návod k použití, obsahující list protokolu, seznam laboratorního vybavení a charakteristiku funkčních vlastností.

* Před použitím zajistěte, aby byly přístroje zkontrolovány a nakalibrovány podle doporučení výrobce.

Varování a bezpečnostní opatření

Vezměte prosím na vědomí, že podle místních předpisů od vás může být vyžadováno nahlášení závažných událostí, ke kterým došlo v souvislosti se zařízením, a to výrobci a/nebo jeho autorizovanému zástupci a regulačnímu orgánu, pod nějž uživatel a/nebo pacient spadá.

Pro diagnostické použití in vitro

Před použitím sady si pečlivě přečtěte všechny pokyny.

Mějte na paměti následující reziduální rizika:

- Při použití sekundárních zkumavek se ujistěte, že nedojde k pomíchání ID vzorků během přenosu ID vzorku z primární (odběrové) do sekundární zkumavky.
- ID vzorků lze také zadat ručně (podrobnosti naleznete v *uživatelské příručce pro zařízení QIASymphony SP*). Pokud jsou ručně zadána nesprávné údaje ID, může dojít k chybné korelaci mezi vzorkem a pacientem.

Informace o bezpečnosti

Při manipulaci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní pracovní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Bližší informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (BL). Bezpečnostní listy jsou k dispozici online v praktickém a kompaktním formátu PDF na stránkách www.qiagen.com/safety, kde můžete nalézt, zobrazit a vytisknout BL pro každou soupravu QIAGEN i pro každou součást těchto souprav.

- Veškeré chemikálie a biologické materiály jsou potenciálně nebezpečné. Vzorky a alikvoty jsou potenciálně infekční, a musí se s nimi proto zacházet jako s biologicky nebezpečnými materiály.

- Alikvoty a odpad z analýzy zlikvidujte v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

VAROVÁNÍ Nebezpečí zranění



Nepřidávejte roztoky bělicích prostředků nebo kyselin přímo do odpadních materiálů z přípravy vzorků.

Puřry v kazetě s reagenциemi obsahují azid sodný. Pokud dojde k rozlití puřrů z této sady, vyčistěte místo vhodným laboratorním detergentem a vodou. Pokud rozlitá kapalina obsahuje případná infekční agens, vyčistěte zasažené místo nejdříve laboratorním detergentem a vodou, a potom 1% (obj/obj) roztokem chlornanu sodného.

Vzorky a alikvoty jsou potenciálně infekční. Vzorky a odpad z analýzy zlikvidujte v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

Informace pro naléhavé případy

CHEMTREC

USA a Kanada 1-800-424-9300

Mimo území USA a Kanady +1 703-527-3887

Bezpečnostní opatření

Pro jednotlivé komponenty sady QIASymphony DSP Circulating DNA Kit platí následující pokyny týkající se nebezpečí a bezpečnostních opatření.

MBS3

Sodium azide

Obsahuje: Azid sodný. Varování! Může být škodlivý při požití. Kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře, pokud se necítíte dobře.

Proteinase K



Obsahuje: proteinázu Proteinase K. Nebezpečí! Způsobuje mírné podráždění kůže. Při vdechnutí může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu, případně dechové obtíže. Vyvarujte se vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/výparů/aerosolů. Obsah/nádobu likvidujte ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu. Při dýchacích potížích: Kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře. PŘI VDECHNUTÍ: Při obtížném dýchání přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte ho v klidu v poloze usnadňující dýchání. Používejte ochranný respirátor.

QSW9



Obsahuje: ethanol. Nebezpečí! Způsobuje vážné podráždění očí. Vysoce hořlavá kapalina a výpary. Obsah/nádobu likvidujte ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu. Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Chraňte před teplem/jiskrami / otevřeným plamenem / horkými povrchy. - Zákaz kouření. Skladujte na dobře větraném místě. Uchovávejte v chladu. Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít.

Likvidace

Odpad obsahuje vzorky a reagenty. Tento odpad může obsahovat toxické nebo infekční materiály a musí být řádně zlikvidován. Postupujte při likvidačních procedurách v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

Bližší informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (BL). Bezpečnostní listy jsou k dispozici online ve formátu PDF na stránkách www.qiagen.com/safety, kde si uživatelé mohou vyhledat, zobrazit a vytisknout bezpečnostní listy pro každou soupravu QIAGEN a pro každou komponentu příslušné soupravy.

Skladování reagensií a manipulace s nimi

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA Kit se musí uchovávat ve svislé poloze při pokojové teplotě (15–25 °C). Magnetické částice v kazetách s reagensiemi zůstávají při uchovávání za této teploty aktivní.

Sada QIASymphony DSP Circulating DNA Kit obsahuje roztok proteinázy K připravený k okamžitému použití, který lze uchovávat při pokojové teplotě.

Poznámka: Štítek na sadě QIASymphony DSP Circulating DNA Kit udává dobu použitelnosti sady. Soubor s výsledky dokumentuje dobu použitelnosti pouze pro kazetu s reagensiemi.

Po uplynutí doby použitelnosti sadu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit nepoužívejte.

Stabilita při používání

Částečně použité kazety s reagensiemi lze uchovávat maximálně po dobu 4 týdnů, a to ve vzpřímené poloze při pokojové teplotě (15–25 °C), což umožňuje úsporné opakované použití reagensií a pružnější zpracovávání vzorků. Pokud se kazeta s reagensiemi použije částečně, vyměňte kryt vaničky obsahující magnetické částice a uzavřete kazetu s reagensiemi dodávanými opětovně použitelnými uzavíracími proužky (Reuse Seal Strips, RSS) bezprostředně po skončení cyklu protokolu, aby nedošlo k odpařování.

Aby se zabránilo odpařování reagensií, musí být kazeta s reagensiemi otevřena nejvýše 15 hodin (včetně doby provozu) při maximální teplotě prostředí 32 °C. Nesprávné skladování komponent sady může vést ke zrychlenému stárnutí pufru.

Zpracování šarží s nízkým počtem vzorků (< 24) zvyšuje jak dobu, po kterou je kazeta s reagensiemi (Reagent Cartridge, RC) otevřená, tak požadované objemy pufru, což potenciálně snižuje celkový počet možných stanovení vzorků na kazetu.

Chraňte kazetu na reagentie před působením UV záření (např. použité pro dekontaminaci), protože expozice může způsobit zrychlené stárnutí kazet s reagensiemi a pufru.

Odběr, skladování vzorků a manipulace s nimi

Další informace o automatizovaném postupu (včetně informací o zkumavkách na vzorky, které lze použít v rámci konkrétních protokolů), skladování vzorků, manipulaci se vzorky a specifické předběžné úpravě vzorků naleznete v příslušném listu protokolu a v seznamu laboratorního vybavení na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.

Postup

Automatická purifikace na přístroji QIASymphony SP

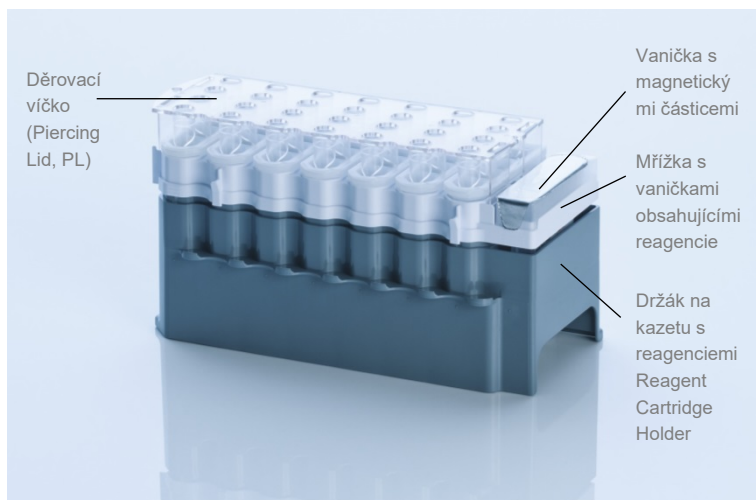
Přístroj QIASymphony SP usnadňuje automatickou přípravu vzorků a zvyšuje pohodlí přípravy. Vzorky, reagentie, spotřební materiál a eluáty jsou odděleně uchovávány v různých zásuvkách. Před vlastním zpracováním jednoduše založte vzorky, kazety s reagentiemi a spotřební materiál předem umístěný ve stojánku do příslušné zásuvky. Spusťte protokol a po zpracování vyjměte purifikovanou DNA ze zásuvky „Eluate“ (Eluát). Instrukce naleznete v uživatelských příručkách dodávaných s přístrojem.

Poznámka: Volitelná údržba není pro funkci přístroje povinná, ale velmi ji doporučujeme pro snížení rizika kontaminace.

Škála dostupných protokolů se neustále rozšiřuje a další protokoly QIAGEN je možné zdarma stáhnout na stránkách www.qiagen.com na kartě zdrojů jednotlivých sad.

Vkládání kazet s reagentiemi do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagentie a spotřební materiál)

Reagentie pro purifikaci DNA jsou obsaženy v inovativní kazetě s reagentiemi (viz obrázek 2, strana 17). Každá vanička kazety s reagentiemi obsahuje speciální reagentie jako např. magnetické částice, vazebný pufr, promývací pufr nebo eluční pufr. Jen částečně použité kazety s reagentiemi lze znovu uzavřít pomocí opětovně použitelných uzavíracích proužků, čímž se předchází vytváření odpadu v důsledku zbylých reagentií na konci purifikačního postupu.



Obrázek 2. Kazeta s reagentiemi QIASymphony. Kazeta s reagentiemi obsahuje všechny reagentie potřebné pro zpracování protokolu.

Před zahájením postupu ověřte, že jsou magnetické částice plně resuspendované. Před prvním použitím vyjměte vaničku s magnetickými částicemi z rámu kazety s reagentiemi, rázně ji minimálně 3 minuty vortexujte a pak ji před prvním použitím vložte zpět do rámu kazety s reagentiemi.

Poznámka: Magnetické částice mohou změnit barvu. To nemá žádný vliv na výkon.

Kazetu s reagentiemi vložte do držáku kazet s reagentiemi Reagent Cartridge Holder. Před prvním použitím kazety s reagentiemi umístěte děrovací víčko (Piercing Lid, PL) na vrchní část kazety s reagentiemi (obrázek 2, nahoře).

Poznámka: Děrovací víčko je ostré. Při jeho pokládání na kazetu s reagentiemi postupujte s opatrností. Ujistěte se, že jste umístili děrovací víčko na kazetu s reagentiemi ve správném směru.

Po odstranění vaničky s magnetickými částicemi se následně do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagentie a spotřební materiál) vloží kazeta s reagentiemi.

Částečně použité kazety s reagentiemi lze uložit, dokud nebudou znovu potřeba (viz část „Skládování reagentií a manipulace s nimi“ na straně 14).

Poznámka: Proteináza K musí být přidána podle informací uvedených v listu protokolu na kartě zdrojů na straně produktu www.qiagen.com.

Poznámka: Ujistěte se, že nejsou promíchány kazety s reagensy, vaničky s magnetickými částicemi a lahvičky s proteinázou K z různých šarží sad.

Vkládání umělohmotného vybavení do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební materiál)

Zásobníky pro přípravu vzorků, kryty 8-Rod Covers (oboje je seskládáno do jednotkových boxů) a jednorázové špičky s filtrem (200 μ l špičky se dodávají v modrých stojáncích, 1500 μ l špičky se dodávají v černých stojáncích) se vkládají do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební materiál).

Poznámka: Ujistěte se, že jsou víka jednotkových boxů před vložením boxů do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební materiál) odstraněna.

Poznámka: Špičky mají filtry jako prevenci křížových kontaminací.

Do drážek pro stojánky na špičky na pracovní ploše QIASymphony SP lze vložit kterýkoliv typ stojánku na špičky. QIASymphony SP definuje typ vložených špiček během kontroly vloženého obsahu („inventory scan“).

Poznámka: Nedoplňujte stojánky na špičky, boxy na zásobníky pro přípravu vzorků ani kryty 8-Rod Covers před spuštěním dalšího cyklu. QIASymphony SP umí použít částečně užité stojánky na špičky a boxy s jednotkami.

Požadovaný spotřební materiál je uveden v příslušném listu protokolu, který lze nalézt na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com. Informace o způsobu objednávání plastových předmětů najdete na straně 33.

Plnění zásuvky „Waste“ (Odpad)

Zásobníky pro přípravu vzorků a 8-Rod Covers použité během cyklu se seskládají zpět do prázdných boxů v zásuvce „Waste“ (Odpad). Ujistěte se, že zásuvka „Waste“ (Odpad) obsahuje dostatečné množství prázdných boxů pro plastový odpad generovaný při zpracování.

Poznámka: Ujistěte se, že jsou víka jednotkových boxů před vložením boxů do zásuvky „Waste“ (Odpad) odstraněna. Používáte-li boxy pro kryty 8-Rod Covers pro sběr použitých kazet pro přípravu vzorků a krytů 8-Rod Covers, ujistěte se, že z nich byla odstraněna distanční vložka.

Sáček pro použité špičky s filtrem musí být připevněn k přední straně zásuvky „Waste“ (Odpad).

Poznámka: Přítomnost odpadního sáčku na špičky není systémem kontrolována. Před začátkem zpracování se ujistěte, že je odpadní sáček správně připevněn. Další informace naleznete v uživatelských příručkách dodávaných s vaším přístrojem. Vyprázdněte odpadní sáček po zpracování maximálně 96 vzorků, aby se zamezilo nakupení špiček.

Odpadní kontejner sbírá tekutý odpad generovaný během postupu purifikace. Zásuvku „Waste“ (Odpad) lze zavřít jen tehdy, pokud je odpadní kontejner na místě. Tekutý odpad likvidujte podle místních bezpečnostních a ekologických předpisů. Naplněné odpadní nádoby neautoklávejte. Odpadní nádoby vyprázdněte nejpozději po zpracování maximálně 96 vzorků.

Plnění zásuvky „Eluát“

Vložte požadovaný eluční stojánek do zásuvky „Eluate“ (Eluát). Dlouhodobé skladování eluátů v zásuvce „Eluate“ (Eluát) může způsobit odpařování nebo kondenzaci eluátů, proto se musí používat chladicí pozice. Používejte „Elution slot 1“ (Eluční drážka 1) pouze s odpovídajícím chladicím adaptérem.

Kontrola vloženého obsahu

Před spuštěním cyklu přístroj zkontroluje, zda bylo do příslušných zásuvek vloženo pro testované sady dostatečné množství spotřebního materiálu.

Příprava materiálu vzorků

Sady QIASymphony DSP Circulating DNA Kit jsou navrženy pro automatizovanou purifikaci lidské cirkulující bezbuněčné DNA z lidské plazmy a moči.

Zamezte vytvoření pěny na nebo ve vzorcích. Pěna na vzorcích může vést k pipetování nesprávného objemu vzorku. V závislosti na výchozím materiálu může být nutná předběžná příprava vzorku. Vzorky by měly být před začátkem zpracování ekvilibrovány na pokojovou teplotu (15–25 °C).

Další informace o automatizovaném postupu (včetně informací o zkumavkách na vzorky, které lze použít s konkrétními protokoly) a specifické předběžné úpravě vzorků najdete v příslušném listu protokolu a v seznamu laboratorního vybavení na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.

Uchovávání DNA

Poznámka: Stabilita eluátu je výrazně závislá na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Tyto vlastnosti byly stanoveny pro sadu QS DSP Circulating DNA Kit ve spojení s ukázkovými následnými aplikacemi. Je odpovědností uživatele, aby si prostudoval návod k použití konkrétní následné aplikace využívané jeho laboratoří a/nebo aby ověřil celý pracovní postup za účelem stanovení vhodných podmínek skladování.

Po přípravě vzorku mohou být eluáty skladovány při teplotě 2–8 °C až 1 měsíc a při teplotě –20 °C nebo –80 °C po dobu až 2 měsíců. Zmrazené eluáty nesmějí roztát více než třikrát.

Protokol: Purifikace cirkulující bezbuněčné DNA

Přehled protokolu

Tabulka 1. Přehled protokolu

Vzorek	Objem vzorku (μl)	Eluční objem (μl)	Protokol QIASymphony SP
Plazma, moč	2000	60	circDNA_2000_DSP
Plazma, moč	4000	60	circDNA_4000_DSP

Podrobné informace jsou uvedeny v listech protokolu a v seznamu laboratorního vybavení na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.

Následující popis je obecný protokol pro používání sad QIASymphony DSP. Podrobné informace ke každému protokolu, včetně objemů a zkumavek, jsou uvedeny v listech protokolu, které naleznete na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.

Důležité body před zahájením používání

- Přesvědčte se, že jste obeznámen/a s provozem přístroje QIASymphony SP. Instrukce naleznete v uživatelských příručkách dodávaných s přístrojem.
- Volitelná údržba není pro funkci přístroje povinná, ale velmi ji doporučujeme pro snížení rizika kontaminace.
- Před zahájením testu si přečtete část „Popis a principy“, strana 5.
- Dbejte na to, abyste se seznámili s protokolem příslušným k danému postupu, který chcete použít. (Listy protokolu naleznete na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.)
- Vyhněte se prudkému třepání kazetou s reagensy, jinak by se mohla vytvořit pěna, která může vést k problémům s detekcí hladiny tekutiny.

Před zahájením předběžné přípravy, která vyžaduje Buffer ATL, zkontrolujte, zda se v pufru Buffer ATL nevytvořil precipitát. V případě potřeby jej rozpustíte zahřátím na teplotu 70 °C za šetrného promíchání ve vodní lázni. Odsajte bubliny z povrchu pufru Buffer ATL.

Co je třeba udělat, než začnete

- Před zahájením postupu ověřte, že jsou magnetické částice plně resuspendované. Před prvním použitím vaničku s magnetickými částicemi důkladně vortexujte po dobu nejméně 3 minut.
- Ověřte, že propichovací víčko je nasazeno na kazetě s reagensiemi, a že víčko z vaničky s magnetickými částicemi bylo sejmuto, nebo, pokud používáte kazetu s reagensiemi, která již byla částečně využita, ověřte, že byly opětovně použitelné uzavírací proužky odlepeny.
- Proteináza K není součástí kazety s reagensiemi, ale musí ji zajistit uživatel (zásuvka na vzorky, drážka A, pozice 1, 2 a/nebo 3). Zajistěte, aby byl k dispozici správný objem proteinázy K. (Podrobné informace jsou uvedeny v listu protokolu, který lze nalézt na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com).
- Pokud jsou vzorky označeny čárovým kódem, orientujte vzorky v nosiči zkumavek tak, aby byly čárové kódy obráceny ke čtečce čárových kódů na levé straně přístroje QIASymphony SP.
- Informace o zkumavkách na vzorky kompatibilních s protokoly naleznete v příslušném seznamu laboratorního vybavení, který je k dispozici na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.
- Informace o minimálních objemech vzorků pro sekundární zkumavky naleznete v příslušném seznamu laboratorního vybavení, který je k dispozici na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.

Postup

1. Zavřete všechny zásuvky a odsávací kryt.
2. Zapněte přístroj QIASymphony SP a vyčkejte, dokud se neobjeví obrazovka **Sample Preparation** (Příprava vzorku) a skončí inicializační postup.

Vypínač je umístěn v levém spodním rohu přístroje QIASymphony SP.

3. Přihlaste se do přístroje.

4. Vložte požadovaný eluční stojánek do zásuvky „Eluate“ (Eluát).

Do „Elution slot 4“ (Eluční drážka 4) nevkládejte 96jamkovou destičku. Použijte drážku „Elution slot 1“ (Eluční drážka 1) s odpovídajícím chladicím adaptérem.

Když používáte 96jamkovou destičku, ověřte, že je správně orientovaná, protože nesprávné umístění může při pozdější analýze způsobit záměnu vzorků.

Při použití stojanu na eluční mikrozkušavky Elution Microtubes CL, odstraňte spodní část otáčením stojanu, dokud se spodní část neodpojí.

5. Ujistěte se, že je zásuvka „Waste“ (Odpad) správně připravená a proveďte kontrolu obsahu zásuvky „Waste“ (Odpad), včetně žlábků na špičky a na tekutý odpad. V případě potřeby vyměňte sáček na likvidaci špiček.

6. Vložte požadovanou kazetu (požadované kazety) s reagensiemi a spotřebním materiálem do zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební materiál).

7. Proveďte sken zásoby zásuvky „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební materiál).

8. Umístěte vzorky do správného nosiče vzorků a vložte je do zásuvky „Sample“ (Vzorek).

9. Pomocí dotykové obrazovky zadejte požadované informace o každé zpracovávané sadě vzorků a o proteínáze K.

Zadejte následující informace:

- Informace o vzorku (v závislosti na použitých stojáncích na vzorky)
- Protokol, který bude spuštěn (Assay Control Set (Kontrolní souprava analýzy))
- Eluční objem a výstupní pozice

Po zadání informací o sadě se status změní z LOADED (NAPLNĚNO) na QUEUED (ZAŘAZENO). Jakmile je jedna sada zařazena, objeví se tlačítko Run (Spustit).

10. Umístěte proteínázu K do příslušného nosiče vzorku na pozici 1, 2 a/nebo 3 a vložte je do drážky A zásuvky „Sample“ (Vzorek).

11. Stisknutím tlačítka IC definujte proteinázu K.
12. Stisknutím tlačítka Run (Cyklus) zahajte postup purifikace.

Všechny kroky zpracování jsou plně automatizované. Na konci protokolu se status šarže změní z RUNNING (ZPRACOVÁVÁ SE) na COMPLETED (DOKONČENO).
13. Vyjměte eluční stojan obsahující purifikované nukleové kyseliny ze zásuvky „Eluate“ (Eluát).
14. DNA je připravena k použití nebo ji lze uchovávat při teplotách 2–8 °C, –20 °C nebo –80 °C.

Destičku s eluáty doporučujeme ze zásuvky „Eluate“ (Eluát) vyjmout ihned po skončení cyklu. V elučních destičkách ponechaných v přístroji QIASymphony SP po skončení cyklu může docházet ke kondenzaci nebo odpařování podle toho, jaká je teplota a vlhkost.

Magnetické částice se většinou nepřenášejí do eluátů. Pokud přesto dojde k přenosu, magnetické částice v eluátech většinu následných aplikací neovlivní.

Pokud bude třeba magnetické částice před následnými aplikacemi odstranit, zkumavky nebo destičky obsahující eluáty musejí být nejdříve vloženy do vhodného magnetu a eluáty přeneseny do čisté zkumavky (viz „Řešení potíží“, strana 27).

Pro každou destičku s elučními zkumavkami je generován soubor s výsledky.
15. Pokud byla kazeta s reagensii použita pouze částečně, uzavřete ji ihned po skončení cyklu protokolu pomocí dodávaných opětovně použitelných uzavíracích proužků, aby se zamezilo vypařování.

Poznámka: Další informace o skladování částečně použitých kazet s reagensii naleznete v části „Skladování reagensii a manipulace s nimi“, strana 14.
16. Použité zkumavky na vzorky a odpad zlikvidujte v souladu s místními bezpečnostními předpisy.

Informace o bezpečnosti viz „Varování a bezpečnostní opatření“ na straně 11.
17. Vyčistěte zařízení QIASymphony SP.

Postupujte podle pokynů pro údržbu v uživatelských příručkách dodávaných s přístrojem. Dbejte na pravidelné čištění chránítek špiček; minimalizujete tím riziko zkřížené kontaminace.
18. Uzavřete zásuvky přístroje a VYPNĚTE přívod proudu k přístroji QIASymphony SP.

Kontrola kvality

V souladu se systémem řízení kvality QIAGEN certifikovaným ISO se testuje každá šarže sady QIASymphony DSP Circulating DNA Kit vzhledem k předem stanoveným specifikacím, aby se zajistila konzistentní kvalita výrobku.

Omezení

Výkonnost systému byla stanovena ve studiích pro hodnocení výkonnosti při postupu purifikace lidské ccfDNA z lidské plazmy a moči.

Každý uživatel je zodpovědný za validaci funkčních vlastností systémů u všech postupů používaných v dané laboratoři, které nejsou zahrnuty ve studiích hodnotících funkční vlastnosti výrobků QIAGEN.

Pro minimalizaci rizika negativního dopadu na diagnostické výsledky je zapotřebí používat pro aplikace v dalších stupních analýzy odpovídající kontroly. Pro další validaci se doporučují pokyny Mezinárodní konference o harmonizaci technických požadavků (International Conference on Harmonization of Technical Requirements, ICH) uvedené v dokumentu *Validace analytických postupů ICH Q2 (R1): Text a metodologie* jsou doporučeny.

Jakékoliv získané diagnostické výsledky se musejí interpretovat v kontextu ostatních klinických nebo laboratorních nálezů.

Charakteristika funkčních vlastností

Příslušné charakteristiky funkčních vlastností jsou uvedeny na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com.

Řešení potíží

Uvedené návody mohou pomoci při řešení potíží, které mohou nastat při práci se systémem. Další informace můžete najít také mezi častými dotazy (Frequently Asked Questions, FAQ) na stránkách našeho centra technické podpory: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Vědeckí pracovníci technické podpory společnosti QIAGEN vždy rádi zodpoví Vaše dotazy ohledně údajů a/nebo protokolů uvedených v této příručce a poskytnou vám informace o technologiích analýz (kontaktní údaje naleznete na webových stránkách www.qiagen.com).

Komentáře a návrhy

Obecné pokyny k manipulaci

Chybová zpráva zobrazená na dotykové obrazovce

Pokud se během protokolu objevila chybová zpráva, nahlédněte do uživatelské příručky dodávané s vaším přístrojem.

Precipitáty ve vaničkách s reagenciemi otevřené kazety sady QIAsymphony DSP

- | | | |
|----|--------------------------------|---|
| a) | Odpařování pufrů | Rozsáhlé vypařování může vést ke zvýšené koncentraci soli v pufrách. Likvidace kazet s reagenciemi. Pokud je nepoužíváte při purifikaci, ujistěte se, že jste uzavřeli vaničky s pufrů částečně použitých kazet s reagenciemi pomocí opětovně použitelných uzavíracích proužků. |
| b) | Uchovávání kazet s reagenciemi | Skládování kazety s reagenciemi při teplotách nižších než 15 °C může vést k tvorbě sraženin. |

Nízký výtěžek DNA

- | | | |
|----|---|---|
| a) | Magnetické částice nebyly plně resuspendovány | Před zahájením postupu ověřte, že jsou magnetické částice plně resuspendované. Před použitím je minimálně 3 minuty vortexujte. |
| b) | Ucpávání pipetovacích špiček v důsledku nerozpustného materiálu | Ze vzorků nebyl před začátkem postupu purifikace QIAsymphony vyjmut nerozpustný materiál.
V případě potřeby využijte postupy předběžné úpravy popsanych v příslušném listu protokolu, který lze nalézt na kartě zdrojů na straně produktu na adrese www.qiagen.com . |
| c) | Materiál vzorku obsahuje nízkou koncentraci ccfDNA | Vzhledem k velmi nízkému množství ccfDNA ve vzorcích je možné, že v závislosti na použité metodě kvantifikace nebude detekována koncentrace DNA.
Pro kontrolu koncentrace DNA v eluátech se doporučuje použít citlivou qPCR. |
| d) | Neúplné opětovné uzavření kazety s reagenciemi | Výměna s okolním vzduchem může vést ke snížení stability pufrů, což vede ke snížení účinnosti extrakce ccfDNA u částečně použité kazety s reagenciemi. Pokud je nepoužíváte při purifikaci, ujistěte se, že jste důkladně uzavřeli vaničky s pufrů částečně použitých kazet s reagenciemi pomocí opětovně použitelných uzavíracích proužků. |

Komentáře a návrhy

- e) Rychlá degradace ccfDNA v nestabilizovaném vzorku moči
- Vzhledem k rychlé degradaci ccfDNA v nestabilizovaných vzorcích moči po odběru vzorku je možné, že bude detekována nulová/nízká koncentraci DNA v eluátech. Doporučuje se stabilizovat vzorek moči, jak je popsáno v příslušném protokolu.
- Případně je možné podrobit vzorky moči ihned po odběru a centrifugaci předběžné úpravě s použitím pufru ATL a následné extrakci DNA na přístroji, jak je popsáno v příslušném protokolu.

Žádný/neúplný přenos vzorku

- a) Vložení nesprávného objemu vzorku
- Pokud je vložen menší objem vzorku než 2,4 ml a 4,5 ml, existuje zvýšené riziko nejasného označení vzorku.
- Pokud je vložen menší objem vzorku než 1,4 ml a 3,6 ml, existuje zvýšené riziko neplatného označení a nepřenesení vzorku.
- Vložte správný objem vzorku, jak je popsáno v příslušném seznamu laboratorního vybavení. Pokud není k dispozici dostatečný objem vzorku, přidejte ke vzorku před vložením fosfátem pufovaný fyziologický roztok (Phosphate-buffered saline, PBS) až do požadovaného objemu vzorku.
- b) Bubliny a/nebo pěna ve zkumavce se vzorkem
- Bubliny nebo pěna ve vzorku a/nebo ve vstupní zkumavce se vzorkem mohou mít za následek nesprávnou detekci hladiny kapaliny a následný neúplný přenos vzorku. Odstraňte bubliny ze zkumavky se vzorkem.

Bubliny na špičkách viditelné v průběhu cyklu spuštěného na přístroji

Použití laboratorního vybavení FIX v kombinaci se sníženým vstupním objemem vzorku

Pokud je při použití laboratorního vybavení FIX vložen objem vzorku menší než 2,1 ml a 4,1 ml, existuje zvýšené riziko sníženého přenosu objemu vzorku, který není přístrojem detekován. To může mít za následek tvorbu bublin při přenosu vzorku a/nebo při následném vazebném kroku.

Použijte laboratorní vybavení FIX a vložte správný objem vzorku, jak je popsáno v příslušném seznamu laboratorního vybavení. Pokud není k dispozici dostatečný objem vzorku, přidejte ke vzorku před vložením fosfátem pufovaný fyziologický roztok (Phosphate-buffered saline, PBS) až do požadovaného objemu vzorku.

Viditelná hnědá peleta v eluátu

Přenos kuliček do eluátu












Pokud přesto dojde k přenosu kuliček, magnetické částice v eluátech většinu následných aplikací neovlivní.





Pokud je třeba odstranit magnetické částice, zkumavku obsahující DNA vložte do vhodného magnetického separátoru, dokud nedojde k oddělení magnetických částic.

Pokud není vhodný magnetický separátor dostupný, oddělte zbývající magnetické částice odstředěním zkumavky obsahující DNA v mikrocentrifuze plnou rychlostí po dobu 1 minuty.

Symboly

V návodu k použití anebo na obalu a značení se vyskytují následující symboly:

Symbol	Definice symbolu
 Σ <N>	Obsahuje dostatek reagensů pro <N> reakcí
	Použijte do
	Tento výrobek splňuje požadavky nařízení EU 2017/746 pro diagnostické zdravotnické prostředky in vitro.
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro
	Katalogové číslo
	Číslo šarže
	Číslo materiálu (tj. označení dílu)
	Komponenty
	Obsahuje
	Číslo
	Globální číslo obchodní položky
Rn	R označuje revizi návodu k použití a n je číslo revize

Symbol	Definice symbolu
	Tepelní rozmezí
	Výrobce
	Viz návod k použití
	Varování/upozornění
PROTK	Proteináza K
WELL	Číslo jamky (tj. jamky kazety s reagensy)
REAG CART	Kazeta s reagensy
Sodium azide	Azid sodný
E1OH	Etanol
UDI	Jedinečný identifikátor prostředku

Kontaktní údaje

Pro technickou podporu a více informací navštivte centrum technické podpory na internetové adrese www.qiagen.com/Support, volejte na telefonní číslo 00800-22-44-6000 nebo kontaktujte jedno z technických servisních oddělení společnosti QIAGEN anebo naše místní distributory (viz zadní strana obalu nebo navštivte webové stránky www.qiagen.com).

Příloha: Kvantifikace cirkulující bezbuněčné DNA

Vzhledem k velmi nízkým koncentracím ccfDNA v materiálech vzorků se měření DNA spektrofotometrem nedoporučuje. Pro stanovení koncentrace cirkulující bezbuněčné DNA je třeba použít citlivou a přesnou kvantitativní analýzu založenou na fluorescenci nebo PCR.

Informace pro objednání

Produkt	Obsah	Kat. č.
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Obsahuje 2 kazety s reagensii, zkumavky s proteinázou K a příslušenství	937556
QIASymphony SP	Modul QIASymphony pro přípravu vzorků, roční záruka na součásti a servis	9001297
Související výrobky		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml pufr Buffer ATL pro předběžnou úpravu vzorků moči	939016
Proteinase K (10 ml)	1 x 10ml lahvička	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Držák kazety s reagensii Reagent Cartridge Holder pro použití s přístrojem QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Chladicí nástavec pro 2ml zkumavky se šroubovacím uzávěrem. Pro použití se zásuvkou QIASymphony „Eluate“ (Eluát)	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Chladicí nástavec pro stojánky EMT. Pro použití se zásuvkou QIASymphony „Eluate“ (Eluát)	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Chladicí nástavec pro 1,5ml zkumavky Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock. Pro použití se zásuvkou QIASymphony „Eluate“ (Eluát)	9020731

Produkt	Obsah	Kat. č.
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	8-jamkové kazety pro přípravu vzorků pro použití s přístrojem QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	Kryty 8-Rod Covers pro použití v přístroji QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Disposable Filter-Tips, ve stojanech; □ (8 × 128). Pro použití s přístroji QIAcube® a QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Disposable Filter-Tips, ve stojanech; □ (8 × 128). Pro použití s přístrojem QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Odpadní sáčky na špičky pro použití s přístrojem QIASymphony SP/AS	9013395
Reuse Seal Set (20)	Opětovně použitelné uzavírací proužky Reuse Seal Set pro uzavření částečně použitých kazet s reagensy QIASymphony	997006
Elution Microtubes CL □ (24 x 96)	Nesterilní polypropylenové zkumavky (maximální kapacita 0,85 ml, kapacita pro uchovávání méně než 0,7 ml, eluční kapacita 0,4 ml); 2304 ve stojanech po 96; včetně stripů s víčky	19588

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifické pro výrobek jsou uvedeny v příručce pro soupravu QIAGEN nebo v návodu k použití. Návod k použití k sadám QIAGEN jsou k dispozici na webových stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat na oddělení technických služeb společnosti QIAGEN či od místního distributora.

Historie revizí dokumentu

Revize	Popis
R1, červen 2022	<p>Verze 2, Revize 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Aktualizace na verzi 2 v souladu s požadavky Nařízení o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro• Aktualizována část Dodávané materiály (přidány účinné přísady)• Aktualizována část Varování a bezpečnostní opatření• Aktualizována část Skladování reagensů a manipulace s nimi• Přidána část Likvidace <p>Aktualizována část Řešení potíží (přidán přenos kuliček)</p>

Tato stránka je úmyslně ponechána prázdná

Tato stránka je úmyslně ponechána prázdná

Tato stránka je úmyslně ponechána prázdná

Omezené licenční ujednání pro sadu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit

Používáním tohoto produktu vyjadřuje každý kupující nebo uživatel produktu svůj souhlas s následujícími podmínkami:

1. Tento produkt se může používat výhradně v souladu s protokoly poskytnutými s tímto produktem a tímto návodem k použití a pro použití pouze s komponentami dodanými v rámci panelu. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou licenci svých duševních práv k používání nebo začlenění komponent, které jsou součástí tohoto panelu, společně s kterýmkoliv komponentami, které v rámci tohoto panelu obsaženy nejsou, s výjimkou případů popsaných v tomto návodu k použití a dalších protokolech dostupných na webových stránkách www.qiagen.com. Některé z těchto doplňujících protokolů byly poskytnuty uživateli produktů společnosti QIAGEN pro jiné uživatele produktů QIAGEN. Tyto protokoly nebyly společností QIAGEN důkladně testovány ani optimalizovány. Společnost QIAGEN nezaručuje ani neposkytuje záruku na to, že neporušují práva třetích stran.
2. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou jinou záruku než výslovně stanovené licence v tom smyslu, že tento panel a/nebo jeho použití nenarušuje práva třetích stran.
3. Tento panel a jeho komponenty jsou licencovány k jednorázovému použití a nesmí se používat opakovaně, přepřelobávat ani opakovaně prodávat.
4. Společnost QIAGEN specificky odmítá jakékoli další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
5. Kupující a uživatel tohoto panelu souhlasí s tím, že nepodnikne ani nikomu jinému neumožní podniknout žádné kroky, které by mohly vést k jakémukoli shora zakázané činnosti nebo ji usnadnily. Společnost QIAGEN může prosazovat základy tohoto ujednání o omezené licenci u kteréhokoliv soudu, a bude vyžadovat kompenzaci za veškeré náklady vynaložené na vyšetřování a soudní výlohy včetně poplatků za právní zástupce v případě jakéhokoliv soudního sporu s cílem prosadit toto ujednání o omezené licenci nebo kteréhokoliv ze svých práv k duševnímu vlastnictví v souvislosti s panelem a/nebo jeho součástmi.

Pro aktualizovaná licenční ustanovení viz www.qiagen.com.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAcube® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.

Červen 2022 HB-3034-001 1127534CS © 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

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