



Czerwiec 2022 r.

# QIAsymphony® DSP DNA Mini Kit

## Instrukcja użycia (Karta protokołu)

Protokół VirusBlood200\_V5\_DSP

Wersja 2



Do diagnostyki in vitro

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



REF

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Niemcy

R1

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

## Informacje ogólne

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

Niniejszy protokół służy do oczyszczania wirusowego DNA ze świeżej ludzkiej krwi pełnej za pomocą aparatu QIASymphony SP i zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Wirusowe DNA z uwolnionych wirusów oraz z wirusów związanych z komórkami jest oczyszczane wraz z genomowym DNA z komórek krwi.

<b>Zestaw</b>	Zestaw QIASymphony DSP DNA Mini Kit (nr kat. 937236)
<b>Materiał próbki</b>	Ludzka krew pełna (antykoagulowana EDTA lub cytrynianem)
<b>Nazwa protokołu</b>	VirusBlood200_V5_DSP
<b>Domyślny zestaw ustawień kontrolnych badania</b>	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
<b>Możliwość dostosowania</b>	Objętość elucji: 60, 85, 110 i 165 µl
<b>Wymagana wersja oprogramowania</b>	Wersja 4.0 lub wyższa
<b>Wymagana konfiguracja oprogramowania do stosowania w diagnostyce in vitro</b>	Domyślny profil 1

## Materiały wymagane, ale niedostarczone

### Do przygotowania mieszaniny kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE

- Probówka 2 ml (Sarstedt®, nr kat. 72.693, bez stożkowego dna w kołnierzu przedłużającym)
- Probówka 2 ml (Sarstedt, nr kat. 72.694, stożkowe dno w kołnierzu przedłużającym)
- BD™ 14 ml Falcon polystyrene round-bottom tube (nr kat. 352051)

## Szuflada „Sample” (Próbka)

<b>Typ próbki</b>	Ludzka krew pełna (antykoagulowana EDTA, cytrynianem lub heparyną)
<b>Objętość próbki</b>	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Probówki pierwotne</b>	Więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Probówki wtórne</b>	Więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Wkłady</b>	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Inne</b>	Wymagana mieszanina kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE; użycie kontroli wewnętrznej jest opcjonalne

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

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

nd. = nie dotyczy.

## Szuflada „Waste” (Odpady)

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

## Szuflada „Eluate” (Eluat)

Statyw elucji (zalecamy używanie gniazda 1, pozycji chłodzenia)

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

## Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego

Sprzęt z tworzywa sztucznego	Jedna partia 24 próbek*	Dwie partie 48 próbek*	Trzy partie 72 próbek*	Cztery partie 96 próbek*
Disposable filter-tips, 200 µl†	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl†	98	188	278	368
Sample prep cartridges§	21	42	63	84
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

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

† Statyw na końcówki zawiera 32 końcówki z filtrem.

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

§ Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kaset do przygotowania próbek.

¶ Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-Rod Covers.

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

## Wybrana objętość elucji

Wybrana objętość elucji (µl)*	Początkowa objętość elucji (µl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

\* Objętość elucji wybrana na ekranie dotykowym. Jest to minimalna dostępna objętość eluatu w końcowej probówce elucji.

† Początkowa objętość roztworu elucji wymagana do zapewnienia właściwej objętości eluatu, równej wcześniej wybranej wartości.

## Przygotowanie mieszaniny kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE

Stosowanie protokołu VirusBlood200\_V5\_DSP z systemami amplifikacji, które wykorzystują kontrolę wewnętrzną, może wymagać wprowadzenia tych kontroli wewnętrznych do procedury oczyszczania w celu monitorowania wydajności przygotowywania próbki i dalszych analiz.

Ilość dodawanej kontroli wewnętrznej zależy od systemu oznaczenia oraz objętości elucji wybranej w protokole VirusBlood200\_V5\_DSP. Użytkownik jest odpowiedzialny za wykonanie obliczeń i walidację. W celu ustalenia optymalnego stężenia kontroli wewnętrznej należy zapoznać się z instrukcjami producenta dotyczącymi dalszej analizy.

Kontrole wewnętrzne należy dodawać z mieszaniną kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE (ATE) w całkowitej objętości 60 µl. Mieszaniny kontroli wewnętrznych można użyć do analizowania różnych parametrów jednego eluatu. Użytkownik jest odpowiedzialny za walidację zgodności różnych kontroli wewnętrznych. Zaleca się przygotowanie świeżych mieszanin tuż przed każdym cyklem pracy. Bufor Buffer ATE jest wymagany, nawet jeśli nie jest używana kontrola wewnętrzna.

Wybrana objętość elucji (µl)	Początkowa objętość elucji (µl)	Objętość kontroli wewnętrznej (µl)*	Objętość buforu Buffer ATE (ATE) (µl)	Końcowa objętość na próbkę (µl)
60	90	9	51	60
85	115	11,5	48,5	60
110	140	14	46	60
165	195	19,5	40,5	60

\* Obliczenie ilości kontroli wewnętrznej opiera się na początkowych objętościach elucji. Dodatkowa objętość nieużyteczna zależy od typu próbki użytej do mieszaniny IC; szczegółowe informacje zawiera lista sprzętu laboratoryjnego dostępna pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

**Uwaga:** Wartości widoczne w tabeli służą do przygotowania mieszaniny kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE dla dalszej analizy, w której wymagane jest 0,1 µl kontroli wewnętrznej na µl eluatu.

Próbki zawierające mieszaninę kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE są umieszczane w nośniku próbek. Nośnik próbek zawierający mieszaninę(-ny) kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE należy umieścić w gnieździe A szuflady „Sample” (Próbka).

W zależności od liczby przetwarzanych próbek zalecamy używanie próbek o pojemności 2 ml (Sarstedt, nr kat. 72.693 i 72.694) lub próbek polistyrenowych z okrągłym dnem 17 x 100 mm o pojemności 14 ml (BD, nr kat. 352051) w celu rozcieńczenia kontroli wewnętrznej w sposób opisany w poniższej tabeli. Objętość można rozdzielić na 2 lub więcej próbek.

### Obliczanie objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej

Typ próbki*	Nazwa wyświetlona na ekranie dotykowym aparatu QIASymphony	Obliczanie objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej na próbkę
2 ml z zatyczką; mikropróbka 2 ml, PP, stożkowe dno w kołnierzu przedłużającym (Sarstedt, nr kat. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Mikropróbka 2 ml z zatyczką, mikropróbka 2 ml, PP, bez stożkowego dna w kołnierzu przedłużającym (Sarstedt, nr kat. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Próbka 14 ml, 17 x 100 mm polistyrenowa z okrągłym dnem (BD, nr kat. 352051)	BD#352051 FalconPP 17 x 100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\ddagger$

\* Informacje na temat wymaganych wkładów zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

† To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej ( $n$  = liczba próbek; 60 µl = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE; 360 µl = objętość nieużyteczna wymagana na każdą próbkę). Na przykład dla 12 próbek ( $n$  = 12):  $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$ . Nie napełniać próbki do objętości większej niż 1,92 ml (tj. maksymalnie 26 próbek na próbkę). Jeśli będzie przetwarzanych więcej niż 26 próbek, użyć dodatkowych próbek, upewniając się, że objętość nieużyteczna została dodana do każdej próbki.

‡ To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE ( $n$  = liczba próbek; 60 µl = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna–bufor Buffer ATE; 600 µl = objętość nieużyteczna wymagana na każdą próbkę). Na przykład dla 96 próbek ( $n$  = 96):  $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$ .

## Przygotowanie materiału próbki

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

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

### Ludzka krew pełna

W celu izolacji wirusowego DNA zalecamy użycie próbek krwi pełnej z dodatkiem EDTA lub cytrynianu. W przypadku przechowywania krótkoterminowego (do 7 dni) zalecana jest temperatura 2–8°C. W przypadku przechowywania przez dłuższy okres zalecane jest zamrożenie porcji próbek i przechowywanie ich w temperaturze -20°C do 3 miesięcy lub temperaturze -80°C do 1 roku.

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

W przypadku używania świeżych próbek krwi w probówkach pierwotnych przed załadowaniem ich do aparatu QIASymphony SP należy je dokładnie wymieszać (np. kilka razy odwracając probówki). Zamrożone próbki należy szybko rozmrozić w łaźni wodnej w temperaturze 37°C z delikatnym wstrząsaniem, aby zapewnić ich dokładne wymieszanie, a następnie przed rozpoczęciem procedury doprowadzić do temperatury pokojowej (15–25°C). Aby zapewnić niezawodne przeniesienie próbki, nie dopuszczać do wytworzenia się piany w probówkach. Starać się nie dopuścić do wytworzenia skrzepów krwi w próbkach i, w razie potrzeby, przenieść próbkę bez skrzepów do świeżej probówki.

### Przechowywanie eluatów

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

W przypadku krótkoterminowego przechowywania eluatów (do 7 dni) zalecamy przechowywanie oczyszczonych kwasów nukleinowych w temperaturze 2–8°C. W przypadku przechowywania długoterminowego zalecamy przechowywanie w temperaturze -20°C lub -80°C.

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

## Substancje zakłócające





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

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

**Uwaga:** Zgodnie z normą ISO 20186-2:2019(E) heparyna znajdująca się w probówkach do pobierania krwi może wpłynąć na czystość wyizolowanych kwasów nukleinowych, a potencjalne zanieczyszczenie eluatów spowodowane przeniesieniem może skutkować inhibicją w przypadku niektórych dalszych procedur. Dlatego w przypadku przygotowania osocza zalecane jest wykorzystanie próbek krwi z EDTA lub cytrynianem.

## Symbole

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

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

## Historia zmian

### Wydanie

### Opis

R1, czerwiec 2022 r.

Wersja 2, wydanie 1

- Aktualizacja do wersji 2 w celu spełnienia wymagań w zakresie IVD
- Dodano sekcję Materiały wymagane, ale niedostarczone
- Dodano sekcję Substancje zakłócające
- Dodano sekcję Przechowywanie eluatów
- Dodano sekcję Symbole
- Aktualizacja sekcji Przygotowanie materiału próbki

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

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały wyraźnie oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.  
06/2022 HB-3029-S06-001© 2022 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.