



Leden 2023

# Návod k použití přístroje QIASymphony<sup>®</sup> DSP Circulating DNA Kit (list protokolu)

circDNA\_1000\_DSP\_V1, circDNA\_2000\_DSP\_V3 a circDNA\_4000\_DSP\_V3

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

R2

List protokolu je k dispozici elektronicky a lze je nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Všeobecné informace

Pro diagnostické použití in vitro.

Tento protokol je pro purifikaci lidské cirkulující bezbuněčné DNA z čerstvé nebo zmrazené lidské plazmy a moči při použití sady QIASymphony DSP Circulating DNA Kit a přístroje QIASymphony SP.

<b>Sada</b>	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		
<b>Katalogové č.</b>	937556		
<b>Materiál vzorku</b>	Lidská plazma: <ul style="list-style-type: none"><li>• Z odběrových zkumavek se stabilizátory profilu ccfDNA (např. Cell-Free DNA BCT®, Streck®)</li><li>• z odběrových zkumavek bez stabilizátorů profilu ccfDNA (např. EDTA)</li></ul> Lidská moč: <ul style="list-style-type: none"><li>• Se stabilizátory profilu cfDNA</li><li>• Bez stabilizátorů profilu cfDNA</li></ul>		
<b>Název protokolu</b>	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
<b>Výchozí množina analytických kontrol</b>	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
<b>Eluční objem</b>	60 µl	60 µl	60 µl
<b>Vyžadovaná verze softwaru</b>	Verze 5.0 nebo vyšší	Verze 4.0 nebo vyšší	Verze 5.0 nebo vyšší
<b>Požadovaná konfigurace softwaru pro použití IVD</b>	Výchozí profil 1	Výchozí profil 1	Výchozí profil 1

Při manipulaci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní pracovní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace si vyhledejte v příslušných bezpečnostních listech (BL) které obdržíte od dodavatele výrobku.

## Zásuvka „Sample“ (Vzorek)

<b>Typ vzorku</b>	Lidská plazma a moč (viz „Příprava materiálu alikvotu“)
<b>Objem vzorku</b>	Závisí na typu použitých zkumavek na vzorky Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na adrese <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Odběrové zkumavky alikvotu</b>	–
<b>Zkumavky sekundárního alikvotu</b>	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na adrese <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Vložky</b>	Závisí na typu použitých zkumavek na vzorky Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na adrese <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Jiné</b>	Proteinázu K je potřeba přidat do drážky A (pozice 1, 2 a/nebo 3)

– = neuvedeno.

## Příprava proteinázy K v zásuvce „Sample“ (Vzorek)

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

**Poznámka:** Nezaměňujte lahvičky s proteinázou K v rámci souprav s různými čísly šarží. Používejte pouze roztok proteinázy K dodaný v příslušné soupravě.

**Poznámka:** Zkumavky obsahující proteinázu K jsou umístěny v nosiči zkumavek. Zkumavka obsahující proteinázu K musí být přednostně umístěna na pozici 1. Pokud je třeba vložit několik zkumavek, musí být umístěny na pozici 1, 2 a/nebo 3 ve slotu A zásuvky „Sample“ (Vzorek). Požadovaný typ zkumavky je uveden v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Počet vzorků*	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 <sup>†</sup>
96	6860	11 660	23 320 <sup>†</sup>

\* Pro každý vzorek je požadováno 60 µl pro circDNA\_1000\_DSP, 110 µl pro circDNA\_2000\_DSP nebo 220 µl pro circDNA\_4000\_DSP a další prázdný objem 1100 µl [(n × 60, 110 nebo 220 µl) + 1100 µl].

<sup>†</sup> Pro circDNA\_4000\_DSP: Jestliže zpracováváte více než 48 vzorků, použijte druhou zkumavku. Maximální plnicí objem jedné zkumavky je 11 660 µl. Pro druhou zkumavku je požadován další prázdný objem 1 100 µl.

## Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební materiál)

Pozice A1 a/nebo A2	Kazeta s reagensy (RC)
Poloha B1	–
Držák se stojánkem pro špičky 1-18	Jednorázové filtrační špičky, 200 nebo 1500 µl
Držák boxu jednotky 1–4	Jednotkové krabice obsahující kazety na přípravu vzorků nebo 8-Rod Covers

– = neuvedeno.

## Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držák boxu jednotky 1–4	Prázdňé jednotkové krabice
Držák odpadních sáčků	Odpadní sáček
Držák nádoby na tekutý odpad	Nádoba na tekutý odpad

## Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Eluční stojánek (doporučujeme použít chladicí pozici, slot 1)	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na adrese <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
---	--

## Požadované plastové vybavení

### Protokol circDNA\_1000\_DSP

Plastové vybavení	Jedna šarže	Dvě šarže	Tři šarže	Čtyři šarže
	24 alikvotů*	48 alikvotů*	72 alikvotů*	96 alikvotů*
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

\* Použití méně než 24 vzorků na šarži snižuje počet filtračních špiček k jednorázovému použití požadovaných na jeden běh.

† Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

‡ Počet požadovaných filtračních špiček zahrnuje filtrační špičky pro 1 inventární sken na kazetu s reagensy.

§ V jednotkové krabici je 28 kazet pro přípravu vzorků.

¶ V jednotkové krabici je dvanáct 8-Rod Covers

### Protokol circDNA\_2000\_DSP

Plastové vybavení	Jedna šarže	Dvě šarže	Tři šarže	Čtyři šarže
	24 alikvotů*	48 alikvotů*	72 alikvotů*	96 alikvotů*
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

\* Použití méně než 24 vzorků na šarži snižuje počet filtračních špiček k jednorázovému použití požadovaných na jeden běh.

† Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

‡ Počet požadovaných filtračních špiček zahrnuje filtrační špičky pro 1 inventární sken na kazetu s reagensy.

§ V jednotkové krabici je 28 kazet pro přípravu vzorků.

¶ V jednotkové krabici je dvanáct 8-Rod Covers

### Protokol circDNA\_4000\_DSP

Plastové vybavení	Jedna šarže	Dvě šarže	Tři šarže	Čtyři šarže
	24 alikvotů*	48 alikvotů*	72 alikvotů*	96 alikvotů*
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

\* Použití méně než 24 vzorků na šarži snižuje počet filtračních špiček k jednorázovému použití požadovaných na jeden běh.

† Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

‡ Počet požadovaných filtračních špiček zahrnuje filtrační špičky pro 1 inventární sken na kazetu s reagensy.

§ V jednotkové krabici je 28 kazet pro přípravu vzorků.

¶ V jednotkové krabici je dvanáct 8-Rod Covers

**Poznámka:** Udávaný počet špiček s filtrem se liší od počtu, který je zobrazen na dotykové obrazovce, a to v závislosti na nastaveních (např. počtu interních kontrol použitých na jednu šarži).

## Eluční objem

---

Zvolený eluční objem	Výchozí eluční objem
----------------------	----------------------

60 µl

75 µl

Eluční objem se vybírá na dotykové obrazovce. Průměrný dostupný eluční objem je  $\geq 60$  µl. V jednotlivých případech se může konečný eluční objem pro jednotlivé vzorky změnit až o 5 µl směrem dolů vůči zvolenému objemu (např. 55 µl). Doporučuje se zkontrolovat aktuální objem eluátu při používání systému automatického nastavení kvantitativní analýzy, který před přenosem neověřuje objem eluátu.

## Uchovávání eluátů

**Poznámka:** Stabilita eluátů značně závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Stabilita byla stanovena pro sadu QIASymphony 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.

Doporučuje se vyjmout destičku s eluáty ze zásuvky „Eluate“ (Eluát) ihned po skončení cyklu. Eluční destičky mohou být ponechány v přístroji QIASymphony SP po skončení běhu přes noc (maximálně 16 hodin, včetně doby běhu; doporučené podmínky prostředí: relativní vlhkost 18–26 °C a relativní vlhkost 20–75 %). V závislosti na teplotě a vlhkosti může docházet ke kondenzaci nebo vypařování eluátů.

Po přípravě vzorku mohou být eluáty uchovávány 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 3krát.

## Příprava materiálu alikvotu

**Poznámka:** Stabilita alikvotu je značně závislá na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Stabilita byla stanovena pro sadu QIASymphony 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.

## Lidská plazma

Při použití odběrových zkumavek se stabilizátory profilu ccfDNA je třeba dodržovat pokyny výrobce pro přípravu, skladování, přepravu plazmy a všeobecnou manipulaci s ní. Při použití odběrových zkumavek bez stabilizátorů profilu ccfDNA je třeba řídit se pokyny pro přípravu plazmy, skladování, přepravu plazmy a všeobecnou manipulaci a ní, pokud jsou od poskytovatele specializovaného vyšetřovacího postupu k dispozici. Více podrobností viz *ISO 20186-3:2019 (E) Molekulární diagnostická vyšetření in vitro – Specifikace předvyšetřovacích postupů pro plnou žilní krev – Část 3: Bez buněk izolovaná cirkulující DNA z plazmy*.

Nezávisle na pokynech výrobce odběrových zkumavek je třeba vzít v úvahu následující aspekty podle ISO 20186-3:2019 (E) pro automatickou extrakci ccfDNA z plazmy pomocí sady QIASymphony DSP Circulating DNA Kit a přístroje QIASymphony SP.

Vzorky krve bez stabilizátoru profilu ccfDNA lze použít pro přípravu plazmy (např. odběrová zkumavka s EDTA). Může být také použita plazma připravená ze zkumavek se stabilizátorem profilu ccfDNA (např. Cell-Free DNA BCT od firmy Streck).

Při použití EDTA nebo citrátu jako antikoagulantu se doporučuje neprodleně po darování krve provést separaci plazmy.

Mohou být nezbytné určité následné aplikace pro vyloučení nebo minimalizaci nukleových kyselin z vezikul. V takových případech se doporučuje provádět krok vysokorychlostní centrifugace při 16 000 x g po dobu 10 minut při pokojové teplotě (15–25 °C) po výchozím generování plazmy.

Po odběru a centrifugaci může být plazma uchovávána při pokojové teplotě až 7 dnů a při teplotě 2–8 °C až po dobu 14 dnů. Při skladování delším než 24 měsíců doporučujeme zmrazení alikvotů na teplotu –20 °C nebo –80 °C. Zmrazená plazma nesmí roztát více než 3krát. Opakované zmrazování a roztátí vede k denaturaci a precipitaci proteinů, což může mít za následek snížené výtěžky cirkulujících bezbuněčných nukleových kyselin. Plazmu se doporučuje rozmrazovat ve vodní lázni při teplotě 30 °C po dobu 30 minut. Pokud jsou ve vzorcích viditelné kryoprecipitáty, je nutné je před vložením vzorku do přístroje odstranit. Kryoprecipitáty lze rozpustit vortexováním vzorku (zajistěte, aby byla před vložením vzorku do přístroje odstraněna pěna, pokud je na horní straně vzorku viditelná). Případně lze kryoprecipitáty odstranit odstředěním a přenosem supernatantu, aniž by došlo k narušení pelety do sekundární zkumavky se vzorkem (viz seznam laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na straně produktu na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)). Ihned zahajte purifikační postup.

## Lidská moč

Vzhledem k rychlé degradaci ccfDNA po odběru moči se důrazně doporučuje vzorky moči okamžitě stabilizovat. Ukázkové následné aplikace byly realizovány se sadou QIASymphony DSP Circulating DNA Kit pro účely stanovení doporučení pro manipulaci s močí a její stabilizaci. Přestože se sada používá jako front-end pro více navazujících aplikací, je třeba pro každý takový pracovní postup stanovit podmínky pro manipulaci s močí jako součást vývoje navazující aplikace. Případně je třeba při použití komerčně dostupného stabilizátoru profilu cfDNA pro moč postupovat podle pokynů výrobce.

### Stabilizovaná lidská moč

Stabilizovaná moč může být skladována při pokojové teplotě (15–25 °C) nebo při teplotě 2–8 °C až po dobu 7 dnů. Při skladování delším než 24 měsíců doporučujeme zmrazení alikvotů na teplotu –20 °C nebo –80 °C.

Stabilizované vzorky moči nevyžadují předběžnou úpravu vzorku. Po stabilizaci se doporučuje centrifugovat vzorky moči při nízké rychlosti (při 1900 × g) 10 minut při pokojové teplotě (15–25 °C) pro odstranění buněk před extrakcí ccfDNA. Pokud jsou po centrifugaci v supernatantech viditelné precipitáty, zahřívajte vzorky na 25 °C ve vodní lázni k rozpuštění precipitátů. Před spuštěním běhu přeneste vzorky stabilizované moči do sekundární zkumavky na vzorek a pak vložte tuto zkumavku do nosiče vzorků (viz seznam laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na straně produktu na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Lidská moč „nestabilizovaná“

Před zahájením protokolu, který vyžaduje Buffer ATL, zkontrolujte, zda se v pufru Buffer ATL vytvořil precipitát. V případě potřeby rozpustěte při zahřívání na 70 °C s šetrným mícháním ve vodní lázni. Odsajte bubliny z povrchu pufru Buffer ATL.

**Poznámka:** Pufry Buffer ATL (4 × 50 ml, kat. č. 939016) není součástí sady QIASymphony DSP Circulating DNA Kit a je nutno objednat jej samostatně.

Doporučuje se centrifugovat vzorek moči okamžitě po odběru při nízké rychlosti (při 1900 × g) 10 minut při pokojové teplotě (15–25 °C) pro odstranění buněk. Nestabilizované vzorky moči vyžadují předběžnou úpravu vzorku.

**Důležité:** Před zahájením předběžné úpravy vytemperujte vzorky na pokojovou teplotu (15–25 °C).

**Důležité:** Centrifugaci a předběžnou úpravu je třeba provést do 4 hodin od odběru vzorku moči.

- Smíchejte 1 500 µl moči (circDNA\_1000\_DSP), 2 500 µl moči (circDNA\_2000\_DSP) nebo 4 500 µl moči (circDNA\_4000\_DSP) se 150 µl, 250 µl nebo 450 µl pufru Buffer ATL.
- Inkubujte vzorky při pokojové teplotě (15–25 °C) 1 hodinu.
- Centrifugujte vzorky při 1 900 x g 10 minut při pokojové teplotě (15–25 °C).
- Pokud jsou po centrifugaci v supernatantu viditelné precipitáty, zahřívejte vzorky na 25 °C ve vodní lázni k rozpuštění precipitátů.
- Přeneste supernatanty do sekundární zkumavky na vzorek a pak vložte tuto zkumavku do nosiče vzorků (viz seznam laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na straně produktu na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

**Důležité:** Stabilita a integrita ccfDNA je v nestabilizované moči omezená. Doporučuje se naplnit maximálně jednu šarži obsahující 24 vzorků na jeden běh QIAAsymphony pro minimalizaci času vzorků moči v přístroji.

### Důležité aspekty před vložením vzorků

- Zamezte vytvoření pěny na nebo v alikvotech.
- Vzorky by měly být před začátkem běhu ekvilibrovány na pokojovou teplotu (15–25 °C).


















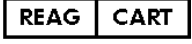
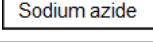


### Interferující látky

Vzorky plazmy s vysokými koncentracemi gamaglobulinu (> 30 g/l) mohou vést ke sníženému zachytu cirkulující bezbuněčné DNA.



## Symboly

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

Symbol	Definice symbolu
	Obsahuje dostatek reagensů pro <N> reakcí
	Použijte do
	Tento výrobek splňuje požadavky evropského nařízení 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích 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
	Teplotní rozmezí
	Výrobce
	Viz návod k použití
	Varování/upozornění
	Proteináza K
	Číslo jamky (tj. jamky kazety s reagensy)
	Kazeta s reagensy
	Azid sodný
	Etanol
	Jedinečný identifikátor zařízení

## Historie revizí

Revize	Popis
R1, červen 2022	Verze 2, revize 1 <ul style="list-style-type: none"><li>• Aktualizace na verzi 2 kvůli souladu s nařízením IVDR</li><li>• Aktualizováno znění v části o manipulaci se vzorky s ohledem na ISO 20186-3:2019 (E) Molekulární diagnostická vyšetření in vitro – Specifikace předvyšetřovacích postupů pro plnou žilní krev – Část 3: Bez buněk izolovaná cirkulující DNA z plazmy</li></ul>
R2, leden 2023	Verze 2, revize 2 <ul style="list-style-type: none"><li>• Aktualizace s přidáním BioScript pro objem vzorku 1 ml (circDNA 1000 DSP)</li><li>• Aktualizace na V3 pro circDNA_2000 a circDNA_4000</li></ul>

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příslušné příručce pro sadu QIAGEN® nebo v uživatelské příručce. Příručky k sadám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na stránkách [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) nebo si je lze vyžádat od technických služeb společnosti QIAGEN nebo místního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.

01/2023 HB-3034-S01-002© 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.