

# Instrucțiuni de utilizare (fișă de protocol) pentru QIASymphony<sup>®</sup> DSP DNA Midi Kit

DNA\_Buffy\_Coat\_400\_V6 DSP protocol

Versiunea 2

**IVD**

A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro

Pentru utilizare cu QIASymphony DSP DNA Midi Kit (96)



**REF**

937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1

Fișa de protocol este disponibilă electronic și poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Informații generale

QIASymphony DSP DNA Kit este destinat utilizării pentru diagnostic in vitro.

Acest protocol este destinat purificării ADN-ului genomic și mitocondrial total din sânge integral uman proaspăt sau congelat, utilizând QIASymphony SP și QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (cat. nr. 937255)
<b>Material de probă</b>	Strat leuco-trombocitar (EDTA, citrat sau heparină anticoagulantă)
<b>Denumire protocol</b>	DNA_BC_400_V6_DSP
<b>Set implicit de control al testului</b>	ACS_BC_400_V6_DSP
<b>Editabil</b>	Volum de eluție: 200 și 400 µl
<b>Versiune software necesară</b>	Versiunea 4.0 sau mai recentă
<b>Configurație software necesară pentru utilizare IVD</b>	Profil implicit 1

## Sertarul „Sample” (Probă)

<b>Tip probă</b>	Sânge integral uman (EDTA, citrat sau heparină anticoagulantă)
<b>Volum probă</b>	Depinde de tipul de eprubetă pentru probe utilizat; pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Eprubete pentru probă primare</b>	nu se aplică
<b>Eprubete pentru probă secundare</b>	Pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Elemente de inserție</b>	Depinde de tipul de eprubetă pentru probe utilizat; pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .

n/a = nu se aplică.

## Sertarul „Reagents and Consumables” (Reactivi și consumabile)

<b>Poziția A1 și/sau A2</b>	Cartuș cu reactivi (RC)
<b>Poziția B1</b>	nu se aplică
<b>Suport al stativului pentru vârfuri 1-17</b>	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 sau 1500 µl
<b>Suport al cutiilor individuale 1-4</b>	Cutii individuale care conțin cartușe pentru prepararea probelor sau 8-Rod Covers

n/a = nu se aplică.

## Sertarul „Waste” (Deșeuri)

<b>Suport al cutiilor individuale 1-4</b>	Cutii individuale goale
<b>Suport al pungilor pentru deșeuri</b>	Pungă pentru deșeuri
<b>Suport al flaconului de deșeuri lichide</b>	Flacon de deșeuri lichide gol

## Sertarul „Eluate” (Eluat)

Stativ de eluție (recomandăm utilizarea fantei 1, poziție de răcire)

Pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Componente din plastic necesare

Componente din plastic	Un lot 24 de probe*	Două loturi 48 de probe*	Trei loturi 72 de probe*	Patru loturi 96 de probe*
Disposable filter-tips, 200 µl†	4	4	4	8
Disposable filter-tips, 1500 µl†	110	212	314	424
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

\* Utilizarea a mai puțin de 24 de probe pe lot scade numărul de vârfuri cu filtru de unică folosință necesar pentru fiecare testare.

† Există 32 de vârfuri cu filtru/stativ pentru vârfuri.

‡ Numărul de vârfuri cu filtru necesare include vârfuri cu filtru pentru 1 scanare a inventarului pe cartuș cu reactivi (RC).

§ Există 28 de cartușe de preparare a probei/cutie individuală.

¶ Există douăsprezece 8-Rod Covers/cutie individuală.

**Rețineți:** Numărul specificat de vârfuri cu filtru poate diferi de numărul afișat pe ecranul tactil, în funcție de setări. Recomandăm încărcarea unui număr maxim posibil de vârfuri.

## Volum de eluție

Volumul de eluție este selectat pe ecranul tactil. În funcție de tipul probei și de conținutul de ADN, volumul de eluat final poate varia cu până la 15 µl mai puțin decât volumul selectat. Deoarece volumul de eluat poate varia, recomandăm verificarea volumului de eluat propriu-zis la utilizarea unui sistem automat de configurare a testelor care nu verifică volumul de eluat înaintea transferului. Eluția în volume mai mici mărește concentrația finală de ADN, dar reduce ușor rezultatul. Recomandăm utilizarea unui volum de eluție corespunzător pentru aplicația din aval dorită.

## Prepararea materialului de probă

Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvate. Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de securitate (Safety Data Sheets, SDS) corespunzătoare, disponibile de la furnizorul produsului.

Pentru recomandări generale privind recoltarea, transportul și depozitarea, consultați ghidul CLSI MM13-A aprobat, „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods” (Recoltarea, transportul, prepararea și depozitarea eșantioanelor pentru metode moleculare). În plus, trebuie urmate instrucțiunile producătorului pentru dispozitivul de recoltare a probelor selectat în timpul preparării, depozitării, transportului și manipulării generale a probelor.

## Strat leuco-trombocitar

Stratul leuco-trombocitar este o fracție îmbogățită cu leucocite din sângele integral. Eficiența îmbogățirii cu leucocite depinde de procedura utilizată pentru prepararea stratului leuco-trombocitar și de precizia cu care este extras stratul leuco-trombocitar. Preparați stratul leuco-trombocitar prin centrifugarea probelor de sânge integral, care conțin un anticoagulant standard (EDTA, citrat sau heparină)

la 900-1100 x g timp de 10 minute la temperatura camerei (15-25 °C). După centrifugare pot fi distinse 3 fracții diferite: stratul transparent superior este plasmă; stratul intermediar este strat leuco-trombocitar, care conține leucocite concentrate; stratul inferior conține eritrocite concentrate. Aproximativ 1 ml de fracție cu conținut leucocitar trebuie recoltat din 10 ml de sânge integral centrifugat, care, în medie, oferă o îmbogățire de 5-6 ori. De exemplu, 10 ml de sânge integral cu un număr de celule albe de  $6 \times 10^6$  celule/ml rezultă în 1 ml strat leuco-trombocitar. Presupunând o îmbogățire de 5 ori a celulelor albe, rezultă  $3 \times 10^7$  celule/ml. Prin urmare, în cadrul unui protocol care folosește 400 µl de strat leuco-trombocitar, se vor folosi  $1,2 \times 10^7$  celule.

Pentru a evita supraîncărcarea procedurii de purificare ADN, nu preparați probe de strat leuco-trombocitar cu îmbogățire > 10 ori. Dacă probele de strat leuco-trombocitar au o îmbogățire > 10 ori, diluați probele la o îmbogățire de maximum 10 ori cu PBS sau folosiți mai puțin material inițial în cursul procedurii de purificare ADN.

Probele de strat leuco-trombocitar pot fi folosite imediat sau depozitate la -20 °C sau la -80°C pentru purificarea ADN-ului la o dată ulterioară. Probele congelate trebuie decongelate rapid, într-o baie de apă la 37 °C, cu o ușoară agitare pentru a asigura amestecarea temeinică, apoi trebuie aduse la temperatura camerei (15-25°C) înainte de începerea procedurii. Pentru a garanta un transfer sigur al probei, evitați generarea spumei în eprubetele pentru probă. Încercați să evitați cheagurile de sânge în probe și, dacă este necesar, transferați proba fără cheaguri într-o eprubetă nouă.

**Rețineți:** Stabilitatea probelor depinde foarte mult de factori variați și este legată de aplicația din aval specifică. Este responsabilitatea utilizatorului să consulte instrucțiunile de utilizare ale aplicației din aval specifice utilizate în laboratorul propriu și/sau să valideze întregul flux de lucru pentru a stabili condițiile de depozitare corespunzătoare.

## Depozitarea eluatelor

Se recomandă scoaterea plăcii de eluat din sertarul „Eluate” (Eluat) imediat după încheierea testării. Plăcile de eluție pot fi lăsate peste noapte în QIASymphony SP după finalizarea testării (maximum 12 ore, inclusiv timpul de testare; condiții de mediu recomandate: 18-26 °C și umiditate relativă 20-75 %). În funcție de temperatură și umiditate, eluatul poate trece prin procesul de condensare sau evaporare.

Pentru depozitarea pe termen scurt, eluatele pot fi depozitate la temperatura camerei timp de cel mult 2 săptămâni. În cazul depozitării pe termen lung, recomandăm depozitarea la 2-8 °C, -20 °C sau -80 °C. Eluatele congelate nu trebuie decongelate de mai mult de trei ori.

**Rețineți:** Stabilitatea eluatului depinde foarte mult de factori variați și este legată de aplicația din aval specifică. Aceasta s-a stabilit pentru QIASymphony DSP DNA Midi Kit împreună cu aplicații din aval tipice. Este responsabilitatea utilizatorului să consulte instrucțiunile de utilizare ale aplicației din aval specifice utilizate în laboratorul propriu și/sau să valideze întregul flux de lucru pentru a stabili condițiile de depozitare corespunzătoare.

## Informație importantă înainte de a începe

- Particulele magnetice QIASymphony pot co-purifica ARN-ul, dacă acesta este prezent în probă. Pentru a reduce la minimum conținutul de ARN din probă, adăugați Rnase A în probă înainte de începerea procedurii. Concentrația finală de RNază A trebuie să fie de 2 mg/ml.

## Limitări și substanțe de interferență





Probele de sânge cu concentrații ridicate de trigliceride (>30 g/l) pot genera un rezultat redus al ADN-ului genomic.

**Rețineți:** Testarea a fost efectuată utilizând aplicații din aval tipice pentru o evaluare a calității acizilor nucleici extrași. Cu toate acestea, diferite aplicații din aval pot avea cerințe diferite în ceea ce privește puritatea (adică absența substanțelor de interferență potențiale), astfel încât identificarea și testarea substanțelor relevante trebuie, de asemenea, să fie stabilite ca parte a dezvoltării aplicației din aval pentru orice flux de lucru care implică produsele QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

**Rețineți:** Rețineți că, în timpul dezvoltării QIASymphony DSP DNA Midi Kit, nu s-au făcut observații cu privire la un posibil impact negativ al heparinei asupra performanței. Cu toate acestea, ISO 20186-2:2019(E) stipulează că heparina din tuburile de recoltare a sângelui poate avea un impact asupra purității acizilor nucleici izolați, iar posibilul transfer în eluați ar putea cauza inhibiții în unele aplicații din aval. Prin urmare, utilizatorul este responsabil pentru validare, în cazul în care heparina are o influență negativă asupra fluxului de lucru al acestuia.

## Simboluri

În acest document apar următoarele simboluri. Pentru o listă completă a simbolurilor utilizate în instrucțiunile de utilizare sau pe ambalaj și etichetă, consultați manualul.

Simbol	Definiția simbolului
	Acest produs îndeplinește cerințele Regulamentului european 2017/746 pentru dispozitive medicale pentru diagnostic in vitro.
	Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro
	Număr catalog
Rn	R reprezintă revizuirea Instrucțiunilor de utilizare, iar n este numărul revizuirii
	Producător

## Istoricul reviziilor

Ediție	Descriere
R1, iunie 2022	Versiunea 2, ediția 1 <ul style="list-style-type: none"><li data-bbox="619 370 1235 395">• Actualizare la versiunea 2 pentru conformitate cu IVD</li><li data-bbox="619 406 1254 431">• Adăugarea secțiunii Limitări și substanțe de interferență</li><li data-bbox="619 442 1114 468">• Adăugarea secțiunii Depozitarea eluatelor</li><li data-bbox="619 478 986 504">• Adăugarea secțiunii Simboluri</li><li data-bbox="619 514 1254 540">• Actualizarea secțiunii Prepararea materialului de probă</li></ul>

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN® respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kiturile QIAGEN sunt disponibile pe [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) sau pot fi solicitate de la Serviciile tehnice QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege. 06/2022 HB-3029-S05-001© 2022 QIAGEN, toate drepturile rezervate.