



Czerwiec 2022 r.

QIAsymphony[®] DSP DNA Midi Kit

Instrukcja użycia (Karta protokołu)

Protokół DNA_Buffy_Coat_400_V6 DSP

Wersja 2



Do diagnostyki in vitro

Do użytku z zestawem QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (96)



937255



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.

Informacje ogólne

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

Niniejszy protokół służy do oczyszczania całkowitego genomowego i mitochondrialnego DNA ze świeżej lub zamrożonej ludzkiej krwi pełnej za pomocą aparatu QIASymphony SP i zestawu QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Zestaw	Zestaw QIASymphony DSP DNA Midi Kit (nr kat. 937255)
Materiał próbki	Kożuszek leukocyta-platek (antykoagulowany EDTA, cytrynianem lub heparyną)
Nazwa protokołu	DNA_BC_400_V6_DSP
Domyślny zestaw ustawień kontrolnych badania	ACS_BC_400_V6_DSP
Możliwość dostosowania	Objętość elucji: 200 i 400 µl
Wymagana wersja oprogramowania	Wersja 4.0 lub wyższa
Wymagana konfiguracja oprogramowania do stosowania w diagnostyce in vitro	Domyślny profil 1

Szuflada „Sample” (Próbka)

Typ próbki	Ludzka krew pełna (antykoagulowana EDTA, cytrynianem lub heparyną)
Objętość próbki	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com .
Próbki pierwotne	nd.
Próbki wtórne	Więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com .
Wkłady	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji zawiera lista sprzętu laboratoryjnego, którą można znaleźć na karcie materiałów źródłowych na stronie produktu pod adresem www.qiagen.com .

nd. = nie dotyczy.

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

Pozycja A1 i/lub A2	Kaseta z odczynnikiem (RC)
Pozycja B1	nd.
Uchwyt na statyw na końcówki 1–17	Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 lub 1500 µl
Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4	Opakowania jednostkowe zawierające kasetki 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.

Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego

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†‡	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

* 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.

Objętość elucji

Objętość elucji jest wybierana na ekranie dotykowym. W zależności od typu próbki i zawartości DNA końcowa objętość eluatu może być mniejsza o maksymalnie 15 µl od wybranej objętości. Ze względu na możliwość występowania różnic w objętości eluatu podczas korzystania z systemu zautomatyzowanej konfiguracji oznaczenia, który nie weryfikuje objętości eluatu przed jego przeniesieniem, zalecamy sprawdzenie rzeczywistej objętości eluatu. Elucja w mniejszych objętościach zwiększa końcowe stężenie DNA, ale nieznacznie zmniejsza uzysk. Zalecamy stosowanie objętości elucji odpowiedniej do zaplanowanych dalszych procedur analitycznych.

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.

Kożuszek leukocytno-płytkowy

Kożuszek leukocytno-płytkowy to frakcja krwi pełnej wzbogacona leukocytami. Wydajność wzbogacenia leukocytami zależy od procedury wykorzystywanej do przygotowania kożuszka leukocytno-płytkowego oraz od dokładności podczas pobierania warstwy kożuszka leukocytno-płytkowego. Przygotować kożuszek leukocytno-płytkowy, wirując próbki krwi pełnej zawierające standardowy antykoagulant (EDTA, cytrynian lub heparynę) przy 900–1100 x g przez 10 minut w temperaturze pokojowej (15–25°C). Po odwirowaniu można rozróżnić 3 różne frakcje: górna, przejrzysta warstwa to osocze; środkowa warstwa to kożuszek leukocytno-płytkowy — koncentrat leukocytów; a dolna warstwa to koncentrat krwinek czerwonych. Z 10 ml odwirowanej krwi pełnej powinno być możliwe pobranie około 1 ml frakcji zawierającej leukocyty, co skutkuje wzbogaceniem o średnio 5–6 razy. Przykład: z 10 ml krwi pełnej o liczbie krwinek białych równej 6×10^6 komórek/ml otrzymano 1 ml kożuszka leukocytno-płytkowego. Zakładając 5-krotne wzbogacenie o krwinki białe, otrzymano stężenie 3×10^7 komórek/ml. Z tego względu w protokole, w którym stosowane jest 400 µl kożuszka leukocytno-płytkowego, zostanie zużytych $1,2 \times 10^7$ komórek.

Aby uniknąć przeładowania procedury oczyszczania DNA, nie należy przygotowywać próbek kożuszka leukocytno-płytkowego z >10-krotnym wzbogaceniem. Jeśli próbki kożuszka leukocytno-płytkowego są wzbogacone >10-krotnie, należy rozcieńczyć je do wzbogacenia 10-krotnego lub mniejszego, używając buforu PBS, lub użyć mniejszej ilości materiału początkowego do procedury oczyszczania DNA.

Próbki kożuszka leukocytno-płytkowego można niezwłocznie zużyć lub przechowywać w temperaturze -20°C lub -80°C w celu późniejszego oczyszczenia DNA. 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. Staraj się nie dopuścić do wytworzenia skrzepów krwi w próbkach i, w razie potrzeby, przenieść próbkę bez skrzepów do świeżej probówki.

Uwaga: Stabilność próbki w znacznym stopniu zależy od różnych czynników i jest powiązana z określonymi dalszymi etapami procedury. 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.

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 przechowywania krótkoterminowego eluatu można przechowywać w temperaturze pokojowej przez okres maks. 2 tygodni. W przypadku przechowywania długoterminowego zalecamy przechowywanie w temperaturze 2–8°C, -20°C lub -80°C. Zamrożonych eluatów nie można rozmrażać więcej niż trzy razy.

Uwaga: Stabilność eluatu w znacznym stopniu zależy od różnych czynników i jest powiązana z określonymi dalszymi etapami procedury. Dla zestawu QIASymphony DSP DNA Midi 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.

Ważna informacja przed rozpoczęciem

- Cząstki magnetyczne QIASymphony mogą spowodować jednoczesne oczyszczenie RNA, jeśli jest on obecny w próbce. W celu zminimalizowania zawartości RNA w próbce przed rozpoczęciem procedury należy dodać do próbki odczynnik RNase A. Końcowe stężenie RNazy A powinno wynosić 2 mg/ml.

Ograniczenia i 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 stosowany jest zestaw QIASymphony DSP DNA Midi Kit, należy zidentyfikować i przetestować odpowiednie substancje.

Uwaga: Podczas opracowywania zestawu QIASymphony DSP DNA Midi Kit nie zauważono, by heparyna miała negatywny wpływ na jego skuteczność. Jednak 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 obowiązkiem użytkownika jest sprawdzenie, czy heparyna ma negatywny wpływ na stosowaną procedurę.

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

R1, czerwiec 2022 r.

Opis

Wersja 2, wydanie 1

- Aktualizacja do wersji 2 w celu spełnienia wymagań w zakresie IVD
- Dodano sekcję Ograniczenia i 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. Można je także zamówić w serwisie technicznym firmy QIAGEN lub u lokalnego dystrybutora.

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group). 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-S05-001© 2022 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.