

Návod na použitie pre QIASymphony® DSP Circulating DNA Kit (protokolový hárok)

circDNA_1000_DSP_V1, circDNA_2000_DSP_V3 a circDNA_4000_DSP_V3

Verzia 2



Na diagnostické použitie in vitro

Na použitie so súpravou QIASymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Nemecko

R2

Protokolový list je dostupný elektronicky a nájdete ho v karte zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com.

Všeobecné informácie

Na diagnostické použitie in-vitro.

Tento protokol je určený na purifikáciu ľudskej cirkulujúcej bezbunkovej DNA z čerstvej alebo zmrazenej ľudskej plazmy a moču pomocou súpravy QIASymphony DSP Circulating DNA Kit a prístroja QIASymphony SP.

Súprava	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		
Katalógové č.	937556		
Materiál vzorky	Ľudská plazma: <ul style="list-style-type: none">• Zo skúmaviek na odber krvi so stabilizátormi profilu ccfDNA (napr. Cell-Free DNA BCT®, Streck®).• zo skúmaviek na odber krvi bez stabilizátorov profilu ccfDNA (napr. EDTA) Ľudský moč: <ul style="list-style-type: none">• So stabilizátormi profilu cfDNA• Bez stabilizátorov profilu cfDNA		
Názov protokolu	circDNA_1000_DSP_V1	circDNA_2000_DSP_V3	circDNA_4000_DSP_V3
Predvolená kontrolná testovacia súprava	ACS_circDNA_1000_DSP_V1	ACS_circDNA_2000_DSP_V3	ACS_circDNA_4000_DSP_V3
Elučný objem	60 µl	60 µl	60 µl
Požadovaná verzia softvéru	Verzia 5.0 alebo vyššia	Verzia 4.0 alebo vyššia	Verzia 5.0 alebo vyššia
Požadovaná konfigurácia softvéru na IVD použitie	Predvolený profil 1	Predvolený profil 1	Predvolený profil 1

Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Viac informácií nájdete v príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ), ktoré sú k dispozícii u dodávateľa produktov.

Zásuvka „Sample“ (Vzorka)

Typ vzorky	Ľudská plazma a moč (pozri „Príprava materiálu vzorky“)
Objem vzorky	Závisí od typu použitej skúmavky na vzorku (Viac informácií nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com).
Primárne skúmavky na vzorky	n/a
Sekundárne skúmavky na vzorky	(Viac informácií nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com).
Vložky	Závisí od typu použitej skúmavky na vzorku Ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com
Iné	Proteináza K sa musí pridať do slotu A (pozícia 1, 2 a/alebo 3)

n/a = nevzťahuje sa.

Príprava proteínázy K v zásuvke „Sample“ (Vzorka)

Súpravy QIASymphony DSP Circulating DNA Kit obsahujú roztok proteínázy K pripravený na použitie, ktorý je možné skladovať pri izbovej teplote.

Poznámka: Nezamieňajte fľaše s proteínázou K medzi rôznymi číslami série súpravy. Používajte len roztok proteínázy K dodaný v príslušnej súprave.

Poznámka: Skúmavky obsahujúce proteínázu K sú umiestnené v nosiči na skúmavky. Skúmavka obsahujúca proteínázu K sa musí preferenčne umiestniť do pozícií 1. Ak je potrebné vložiť viacero skúmaviek, musia sa umiestniť v pozíciách 1, 2 a/alebo 3 v slot A zásuvky „Sample“ (Vzorka). (Informácie o požadovanom type skúmaviek nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v záložke zdrojov na stránke výrobcu na adrese www.qiagen.com).

Počet vzoriek*	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 [†]
96	6860	11 660	23 320 [†]

* Pre každú vzorku sa vyžaduje 60 µl v prípade circDNA_1000_DSP, 110 µl v prípade circDNA_2000_DSP alebo 220 µl v prípade circDNA_4000_DSP plus dodatočný prázdny objem 1 100 µl [(n × 60, 110 alebo 220 µl) + 1 100 µl].

[†] V prípade circDNA_4000_DSP: Ak sa spracováva viac ako 48 vzoriek, použite druhú skúmavku. Maximálny objem náplne na jednu skúmavku je 11 660 µl. Pre druhú skúmavku sa vyžaduje dodatočný prázdny objem 1 100 µl.

Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál)

Pozícia A1 a/alebo A2	Reagenčná kazeta (Reagent Cartridge, RC)
Pozícia B1	n/a
Držiak stojana na hroty 1 – 18	Jednorazové filtračné špičky, 200 µl alebo 1 500 µl
Držiak škatuľky jednotky 1 – 4	Jednotkové krabice obsahujúce kazety s preparátmi vzoriek alebo 8-Rod Covers

n/a = nevzťahuje sa.

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držiak škatuľky jednotky 1 – 4	Prázdne škatuľky jednotky
Držiak odpadového vrečka	Odpadové vrečko
Držiak nádoby na tekutý odpad	Nádoba na tekutý odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Elučný stojan (odporúčame použiť slot 1, pozíciu chladienia)	Ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobcu na adrese www.qiagen.com .
--	--

Požadované plastové vybavenie

Protokol circDNA_1000_DSP

Plastové vybavenie	Jedna dávka 24 vzoriek*	Dve dávky 48 vzoriek*	Tri dávky 72 vzoriek*	Štyri dávky 96 vzoriek*
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

* Použitie menej ako 24 vzoriek na dávku znižuje počet jednorazových filtračných hrotov potrebných na cyklus.

† V stojane na špičky je 32 filtračných špičiek.

‡ Počet potrebných filtračných špičiek zahŕňa filtračné špičky pre 1 inventárny sken na RC.

§ V škatulke jednotky je 28 kaziet s preparátmi vzoriek.

¶ V škatulke jednotky je dvanásť krytov 8-Rod Covers.

Protokol circDNA_2000_DSP

Plastové vybavenie	Jedna dávka 24 vzoriek*	Dve dávky 48 vzoriek*	Tri dávky 72 vzoriek*	Štyri dávky 96 vzoriek*
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

* Použitie menej ako 24 vzoriek na dávku znižuje počet jednorazových filtračných hrotov potrebných na cyklus.

† V stojane na špičky je 32 filtračných špičiek.

‡ Počet potrebných filtračných špičiek zahŕňa filtračné špičky pre 1 inventárny sken na RC.

§ V škatulke jednotky je 28 kaziet s preparátmi vzoriek.

¶ V škatulke jednotky je dvanásť krytov 8-Rod Covers.

Protokol circDNA_4000_DSP

Plastové vybavenie	Jedna dávka 24 vzoriek*	Dve dávky 48 vzoriek*	Tri dávky 72 vzoriek*	Štyri dávky 96 vzoriek*
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

* Použitie menej ako 24 vzoriek na dávku znižuje počet jednorazových filtračných hrotov potrebných na cyklus.

† V stojane na špičky je 32 filtračných špičiek.

‡ Počet potrebných filtračných špičiek zahŕňa filtračné špičky pre 1 inventárny sken na RC.

§ V škatulke jednotky je 28 kaziet s preparátmi vzoriek.

¶ V škatulke jednotky je dvanásť krytov 8-Rod Covers.

Poznámka: Počet daných filtračných hrotov sa môže líšiť od počtov zobrazených na dotykovej obrazovke v závislosti od nastavení (napríklad od počtu interných kontrol použitých v rámci dávky).

Elučný objem

Zvolený elučný objem

60 μ l

Počiatočný elučný objem

75 μ l

Elučný objem sa volí na dotykovej obrazovke. Priemerný dostupný elučný objem je $\geq 60 \mu$ l. V jednotlivých prípadoch môže byť výsledný objem eluátu pre samostatné vzorky o maximálne 5 μ l menší ako vybraný objem (napr. 55 μ l). Pri použití automatického systému nastavenia testu, ktorý neoveruje objem eluátu pred prenosom, sa odporúča skontrolovať skutočný objem eluátu.

Skladovanie eluátov

Poznámka: Stabilita eluátu vo veľkej miere závisí od rôznych faktorov a súvisí s konkrétnou následnou aplikáciou. Bola stanovená pre súpravu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit v spojení s príkladmi následných aplikácií. Používateľ je zodpovedný za to, aby si preštudoval návod na použitie konkrétnej následnej aplikácie používanej v jeho laboratóriu a/alebo overil celý pracovný postup s cieľom stanoviť vhodné podmienky skladovania.

Misku s eluátom sa odporúča vybrať zo zásuvky „Eluate“ (Eluát) ihneď po ukončení cyklu. Misky s eluátom sa môžu po ukončení cyklu ponechať v prístroji QIASymphony SP cez noc (maximálne 16 hodín vrátane doby trvania cyklu; odporúčané podmienky prostredia: 18 – 26 °C a 20 – 75 % relatívnej vlhkosti). V závislosti od teploty a vlhkosti môže dôjsť ku kondenzácii alebo odparovaniu eluátu.

Po príprave vzorky sa eluáty môžu skladovať pri teplote 2 – 8 °C až 1 mesiac a pri teplote – 20 °C alebo – 80 °C až 2 mesiace. Zmrazené eluáty sa nesmú rozmraziť viac ako 3-krát.

Príprava materiálu vzorky

Poznámka: Stabilita vzorky vo veľkej miere závisí od rôznych faktorov a súvisí s konkrétnou následnou aplikáciou. Bola stanovená pre súpravu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit v spojení s príkladmi následných aplikácií. Používateľ je zodpovedný za to, aby si preštudoval návod na použitie konkrétnej následnej aplikácie používanej v jeho laboratóriu a/alebo overil celý pracovný postup s cieľom stanoviť vhodné podmienky skladovania.

Ľudská plazma

Pri používaní skúmaviek na odber krvi so stabilizátormi profilu ccfDNA sa musia dodržiavať pokyny výrobcu týkajúce sa prípravy plazmy, skladovania, prepravy a všeobecnej manipulácie. Ak sa používajú skúmavky na odber krvi bez stabilizátorov profilu ccfDNA a ak sú k dispozícii pokyny týkajúce sa prípravy plazmy, skladovania, prepravy a všeobecnej manipulácie od poskytovateľa špecializovaného vyšetrovacieho postupu, je potrebné postupovať podľa nich. Podrobnejšie informácie sú uvedené v norme *ISO 20186-3:2019 (E) Molekulárno-diagnostické vyšetrenia in vitro – Špecifikácie postupov pred vyšetrením krvi – Časť 3: Izolovaná voľne cirkulujúca bunková DNA z plazmy*.

Nezávisle od pokynov výrobcu skúmavky na odber krvi by sa pri automatizovanej extrakcii ccfDNA z plazmy pomocou súpravy QIASymphony DSP Circulating DNA Kit a prístroja QIASymphony SP mali podľa normy ISO 20186-3:2019 (E) zohľadniť nasledujúce aspekty.

Na prípravu plazmy možno použiť vzorky krvi bez stabilizátora profilu ccfDNA (napríklad v skúmavke na odber krvi EDTA). Použiť možno aj plazmu pripravenú zo skúmaviek so stabilizátorom profilu ccfDNA (napríklad Cell-Free DNA BCT od spoločnosti Streck).

Pri použití EDTA alebo citrátu ako antikoagulantu sa odporúča vykonať separáciu plazmy ihneď po odbere krvi.

V prípade niektorých následných aplikácií môže byť potrebné vylúčiť alebo minimalizovať nukleové kyseliny z vezikúl. V takýchto prípadoch sa po počiatočnom vytvorení plazmy odporúča 10 minút vykonávať vysokorychlostnú centrifugáciu pri 16 000 x g pri izbovej teplote (15 – 25 °C).

Plazma sa po odbere a centrifugácii môže skladovať pri izbovej teplote max. 7 dní a pri teplote 2 – 8 °C max. 14 dní. V prípade dlhšieho skladovania do 24 mesiacov odporúčame zmrazenie alikvót na teplotu – 20 °C alebo – 80 °C. Zmrazená plazma sa nesmie rozmraziť viac ako 3-krát. Opakované zmrazovanie a rozmrazovanie vedie k denaturácii a precipitácii proteínov, čo môže mať za následok zníženie výťažkov cirkulujúcich bezbunkových nukleových kyselín. Odporúča sa rozmraziť plazmu vo vodnom kúpeli pri teplote 30 °C počas 30 minút. Ak sú vo vzorke viditeľné kryoprecipitáty, musia sa pred vložením vzorky do prístroja odstrániť. Kryoprecipitáty možno vyriešiť vortexovaním vzorky (pred vložením vzorky do prístroja sa uistite, že pena, ak je viditeľná na povrchu vzorky, je odstránená). Kryoprecipitáty sa dajú odstrániť aj centrifugáciou a prenesením supernatantu bez narušenia pelety do sekundárnej skúmavky na vzorky (pozri zoznam laboratórneho vybavenia, ktorý nájdete v záložke zdrojov na stránke výrobcu na www.qiagen.com). Okamžite spustíte postup purifikácie.

Ľudský moč

Vzhľadom na rýchlu degradáciu ccfDNA po zbere moču sa dôrazne odporúča vzorky moču okamžite stabilizovať. Na stanovenie odporúčaní pre manipuláciu s močom a jeho stabilizáciu boli použité príklady následných aplikácií pre súpravu QIASymphony DSP Circulating DNA Kit. Hoci sa súprava používa ako front-end pre viaceré následné aplikácie, manipuláciu s močom je potrebné stanoviť pre každý takýto pracovný postup ako súčasť vývoja následnej aplikácie. Prípadne sa pri použití komerčne dostupného stabilizátora profilu cfDNA pre moč musia dodržiavať pokyny výrobcu.

Ľudský moč, stabilizovaný

Stabilizovaný moč sa môže skladovať pri izbovej teplote (15 – 25 °C) alebo pri teplote 2 – 8 °C max. 7 dní. V prípade dlhšieho skladovania do 24 mesiacov odporúčame zmrazenie alikvót na teplotu – 20 °C alebo – 80 °C.

Stabilizované vzorky moču si nevyžadujú žiadnu predbežnú úpravu vzorky. Vzorky moču sa po stabilizácii odporúča 10 minút centrifugovať pri nízkych otáčkach (1 900 x g) pri izbovej teplote (15 – 25 °C), aby sa pred extrakciou ccfDNA odstránili bunky. Ak sú v supernatantoch po centrifugácii viditeľné zrazeniny, zahrejte vzorky na teplotu 25 °C vo vodnom kúpeli, aby sa zrazeniny rozpustili. Pred spustením cyklu preneste stabilizované vzorky moču do sekundárnej skúmavky na vzorky a potom túto skúmavku naložte na nosič na vzorky (pozri zoznam laboratórneho vybavenia, ktorý nájdete v záložke zdrojov na stránke výrobcu na www.qiagen.com).

Ľudský moč, „nestabilizovaný“

Pred spustením protokolu, ktorý vyžaduje Buffer ATL, skontrolujte, či sa v Buffer ATL nevytvoril precipitát. V prípade potreby ho rozpustíte zahriatím na teplotu 70 °C a za jemného miešania vo vodnom kúpeli. Nasajte bubliny z povrchu Buffer ATL.

Poznámka: Pufer Buffer ATL (4 × 50 ml, kat. č. 939016) nie je súčasťou súpravy QIASymphony DSP Circulating DNA Kit a musí sa objednať samostatne.

Vzorky moču sa po odbere odporúča centrifugovať 10 minút pri nízkych otáčkach (1 900 x g) pri izbovej teplote (15 – 25 °C), aby sa odstránili bunky. Nestabilizované vzorky moču si vyžadujú predbežnú úpravu vzorky.

Dôležité: Pred začatím predbežnej úpravy ekvilibrujte vzorky na izbovú teplotu (15 – 25 °C).

Dôležité: Centrifugácia a predbežná úprava by sa mali vykonať do 4 hodín od odberu vzorky moču.

- Zmiešajte 1 500 µl moču (circDNA_1000_DSP), 2 500 µl moču (circDNA_2000_DSP) alebo 4 500 µl moču (circDNA_4000_DSP) so 150 µl, 250 µl alebo 450 µl pufru Buffer ATL.
- Vzorky inkubujte 1 hodinu pri izbovej teplote (15 – 25 °C).
- Vzorky centrifugujte 10 minút pri rýchlosti 1 900 × g pri izbovej teplote (15 – 25 °C).
- Ak sú v supernatante po centrifugácii viditeľné zrazeniny, zahrejte vzorky na teplotu 25 °C vo vodnom kúpeli, aby sa zrazeniny rozpustili.
- Preneste supernatanty do sekundárnej skúmavky na vzorky a potom túto skúmavku naložte na nosič na vzorky (pozri zoznam laboratórneho vybavenia, ktorý nájdete v záložke zdrojov na stránke výrobcu na www.qiagen.com).

Dôležité: Stabilita a integrita ccfDNA je v nestabilizovanom moči obmedzená. Na jeden cyklus QIASymphony sa odporúča vložiť maximálne jednu dávku 24 vzoriek, aby sa minimalizoval čas prevádzky vzoriek moču na nosiči.

Dôležité body pred načítaním vzoriek



















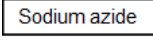


- Zabráňte tvorbe peny vo vzorkách alebo na nich.
- Vzorky musia byť pred začiatkom testu ekvilibrované na izbovú teplotu (15 – 25 °C).

Interferujúce látky

Plazmové vzorky s vysokými koncentraciami gama-globulínu (> 30 g/l) môžu viesť k zníženiu obnovy cirkulujúcej bezbunkovej DNA.

Symboly

V návode na použitie alebo na balení a štítkoch nájdete nasledujúce symboly:

Symbol	Definícia symbolu
	Obsahuje reagenty postačujúce na <N> reakcií
	Použite do
	Tento výrobok spĺňa požiadavky európskeho nariadenia 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro.
	Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro
	Katalógové číslo
	Číslo šarže
	Číslo materiálu (t. j. označenie komponentu)
	Komponenty
	Obsahuje
	Číslo
	Identifikátor GTIN (Global Trade Item Number)
Rn	R označuje revíziu návodu na použitie a n je číslo revízie
	Teplotné obmedzenia
	Výrobca
	Prečítajte si návod na použitie
	Varovanie/upozornenie
	Proteináza K
	Číslo jamky (napr. jamka reagenčnej kazety)
	Reagenčná kazeta
	Azid sodný
	Etanol
	Jedinečný identifikátor pomôcky

História revízií

Revízia	Popis
R1, jún 2022	Verzia 2, revízia 1 <ul style="list-style-type: none">Aktualizácia verzie 2 na účely súladu s nariadením IVDRZnenie časti Manipulácia so vzorkami bola aktualizovaná tak, aby zohľadňovala normu ISO 20186-3:2019 (E) Molekulárno-diagnostické vyšetrenia in vitro – Špecifikácie postupov pred vyšetrením krvi – Časť 3: Izolovaná voľne cirkulujúca bunková DNA z plazmy
R2, január 2023	Verzia 2, revízia 2 <ul style="list-style-type: none">Aktualizácia s pridaním BioScript pre objem vzorky 1 ml (circDNA 1000 DSP)Aktualizácia na V3 pre circDNA_2000 a circDNA_4000

Aktuálne licenčné informácie a právne informácie špecifické pre daný výrobok nájdete v sprievodcovi alebo používateľskej príručke k súprave QIAGEN®. Sprievodcov a používateľské príručky k súpravám QIAGEN nájdete na lokalite www.qiagen.com alebo o ne môžete požiadať oddelenie technických služieb spoločnosti QIAGEN alebo svojho miestneho distribútora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Registrované názvy, ochranné známky atď. použité v tomto dokumente sa nesmú považovať za známky nechránené podľa zákona, i keď neboli ako také označené príslušným symbolom.

01/2023 HB-3034-S01-002© 2022 QIAGEN, všetky práva vyhradené.