Červen 2022

Návod k použití sady QIAsymphony® DSP DNA Mini Kit (protokolový list)

Protokol VirusBlood200_V5_DSP

Verze 2

IVD

K diagnostickému použití in vitro

K použití se sadou QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)

CE

REF 937236

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden, Německo

R1

Protokol je k dispozici v elektronické podobě a najdete jej na produktové stránce v záložce zdroje na adrese www.qiagen.com.

Sample to Insight

Všeobecné informace

Sada QIAsymphony DSP DNA Kit je určena k diagnostickým účelům in vitro.

Tento protokol se týká purifikace virové DNA z čerstvé lidské plné krve pomocí sady QIAsymphony SP a QIAsymphony DSP DNA Mini Kit. Virová DNA z uvolněných virů i z virů asociovaných s buňkami se kopurifikuje s genomovou DNA z krevních buněk.

Sada	Minisada QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (kat. č. 937236)
Materiál vzorku	Lidská plná krev (antikoagulovaná EDTA nebo citrátem)
Název protokolu	VirusBlood200_V5_DSP
Výchozí kontrolní sada analýzy	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Editovatelné	Eluční objem: 60, 85, 110 a 165 µl
Požadovaná verze softwaru	Verze 4.0 nebo vyšší
Požadovaná konfigurace softwaru k použití IVD	Výchozí profil 1

Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky

Pro přípravu směsi interní kontrola-pufr Buffer ATE

- 2ml zkumavka na vzorek (Sarstedt® kat. č. 72.693, bez lišty)
- 2ml zkumavka na vzorek (Sarstedt kat. č. 72.694, s lištou)
- BD™ 14ml polystyrenová zkumavka s kulatým dnem Falcon (kat. č. 352051)

Zásuvka „Sample“ (Vzorek)

Typ vzorku	Lidská plná krev (EDTA, citrát, nebo heparinem anti-koagulační)
Objem vzorku	Záleží na typu použité zkumavky; další informace naleznete v seznamu laboratorního vybavení, který je k dispozici na produktové stránce na adrese adrese www.qiagen.com v záložce zdroje.
Odběrové zkumavky vzorku	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod záložkou zdroje na produktové stránce na adrese www.qiagen.com.
Zkumavky sekundárního vzorku	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod záložkou zdroje na produktové stránce na adrese www.qiagen.com.
Vložky	Záleží na typu použité zkumavky; další informace naleznete v seznamu laboratorního vybavení, který je k dispozici na produktové stránce na adrese adrese www.qiagen.com v záložce zdroje.
Jiné	Je vyžadována směs interní kontrola-pufr Buffer ATE; použití interní kontroly je volitelné

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

Pozice A1 a/nebo A2	Kazeta s reagenciemi (RC)
Poloha B1	–
Držák se stojánkem pro špičky 1–17	Jednorázové filtrační špičky, 200 nebo 1500 µl
Držák boxu jednotky 1–4	Jednotkové krabice obsahující kazety pro přípravu vzorků nebo 8-Rod Covers

– = neuvedeno.

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držák boxu jednotky 1–4	Prázdné jednotkové krabice
Držák odpadních sáčků	Odpadní sáček
Držák nádoby na tekutý odpad	Prázdná lahev na kapalný odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Elační stojánek (doporučujeme použít chladicí pozici, slot 1)	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod záložkou zdroje na produktové stránce na adrese www.qiagen.com.

Požadované plastové vybavení

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

* 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 jeden RC.
§ V jednotkové krabici je 28 kazet pro přípravu vzorků.
¶ V jednotkové krabici je dvanáct 8-Rod Covers.

Poznámka: Udávaný počet filtračních špiček se liší od počtu zobrazeného na dotykové obrazovce v závislosti na nastaveních. Doporučujeme načíst maximální možný počet špiček.

Zvolený elační objem

Zvolený elační objem (µl)*	Počáteční elační objem (µl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* Elační objem se vybírá na dotykové obrazovce. Toto je minimální dosažitelné množství eluátu ve výsledné elační zkumavce.
† Původní objem elačního roztoku je vyžadován, aby bylo zajištěno, že skutečný objem eluátu odpovídá zvolenému objemu.

Příprava směsi interní kontrola-pufr Buffer ATE

Použití protokolu VirusBlood200_V5_DSP v kombinaci s amplifikačními systémy, které používají interní kontrolu, může vyžadovat zavedení těchto interních kontrol do postupu purifikace, aby bylo možné sledovat účinnost přípravy vzorku a následné analýzy.

Množství přidané interní kontroly závisí na systému analýzy a na elučním objemu zvoleném v rámci protokolu VirusBlood200_V5_DSP. Výpočet a validaci musí provést uživatel. Optimální koncentraci interní kontroly určete podle pokynů výrobce navazující analýzy.

Interní kontroly se musí přidat se směsí interní kontrola-pufr Buffer ATE (ATE) v celkovém objemu 60 µl. K analýze různých parametrů z jednoho eluátu lze použít směs interních kontrol. Kompatibilitu různých interních kontrol musí ověřit uživatel. Doporučujeme připravit pro každý běh čerstvé směsi bezprostředně před použitím. Pokud se nepoužívá žádná interní kontrola, je stále nutné používat pufr Buffer ATE.

Zvolený eluční objem (µl)	Počáteční eluční objem (µl)	Objem interní kontroly (µl)*	Objem pufru Buffer ATE (ATE) (µl)	Konečný objem na vzorek (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

* Výpočet množství interní kontroly se zakládá na výchozích elučních objemech. Další objem prázdného prostoru závisí na typu zkumavky na vzorek použité pro IC směs; podrobnosti viz seznam laboratorního vybavení dostupný na adrese www.qiagen.com.
Poznámka: Hodnoty uvedené v tabulce jsou určeny pro přípravu směsi ATE kontrola-pufr pro následnou analýzu, která vyžaduje 0,1 µl vnitřní kontroly/µl eluátu.

Zkumavky obsahující směs interní kontrola-pufr Buffer ATE se umístí do nosiče zkumavek. Nosič zkumavek obsahující směsi interní kontroly a pufru Buffer ATE musí být umístěn do slotu A zásuvky „Sample“ (Vzorek).

V závislosti na počtu zpracovávaných vzorků doporučujeme použít 2ml zkumavky (Sarstedt, kat. č. 72.693 a 72.694) nebo 14ml polystyrenových zkumavek s kulatým dnem o rozměrech 17 x 100 mm (BD, kat. č. 352051) pro ředění interní kontroly, jak je popsáno v tabulce níže. Objem je možné rozdělit do 2 nebo více zkumavek.

Výpočet objemu směsi interní kontroly

Typ zkumavky*	Název na dotykové obrazovce QIAsymphony	Výpočet objemu směsi interní kontroly na zkumavku
2ml s uzávěrem; mikrozkumavka 2ml, PP, s lištou (Sarstedt, kat. č. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 60 µl) + 360 µl†
Mikrozkumavka 2ml s víčkem; mikrozkumavka 2 ml, PP, bez lišty (Sarstedt, kat. č. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 60 µl) + 360 µl†
Zkumavka 14 ml, 17 x 100 mm, polystyrenová, kulaté dno (BD, kat. č. 352051)	BD#352051 FalconPP 17 x 100	(n x 60 µl) + 600 µl‡

* Potřebné vložky naleznete v seznamu laboratorního vybavení, který je k dispozici na záložce zdrojů na produktové stránce na adrese www.qiagen.com.

† Pro výpočet potřebného objemu směsi interní kontroly použijte tuto rovnici (*n* = počet vzorků; 60 µl = objem směsi interní kontrola-pufr Buffer ATE; 360 µl = objem prázdného prostoru potřebný na zkumavku). Například pro 12 vzorků (*n* = 12): (12 x 60 µl) + 360 µl = 1080 µl. Do zkumavky neplňte více než 1,92 ml (tj. maximálně 26 vzorků na zkumavku). Pokud se bude zpracovávat více než 26 vzorků, použijte další zkumavky a dbejte na to, aby byl do každé zkumavky přidán mrtvý objem.

‡ Pomocí této rovnice vypočítejte potřebný objem směsi interní kontrola-pufr Buffer ATE (*n* = počet vzorků; 60 µl = objem směsi interní kontrola-pufr Buffer ATE; 600 µl = objem prázdného prostoru potřebný na zkumavku). Například pro 96 vzorků (*n* = 96): (96 x 60 µl) + 600 µl = 6360 µl.

Příprava materiálu vzorků

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.

Obecná doporučení pro odběr, transport a skladování jsou uvedena ve schváleném pokynu CLSI MM13-A „Odběr, transport, příprava a skladování vzorků pro molekulární metody“. Dále je třeba při přípravě, skladování, přepravě a obecné manipulaci se vzorky dodržovat pokyny výrobce vybraného zařízení pro odběr vzorků.

Lidská plná krev

Pro izolaci virové DNA doporučujeme použít vzorky plné krve ošetřené EDTA nebo citrátem. Pro krátkodobé skladování do 7 dnů doporučujeme skladovat při teplotě 2–8 °C. Pro delší skladování doporučujeme zmrazit alikvoty při –20 °C po dobu až 3 měsíců nebo –80 °C po dobu až 1 roku.

Poznámka: Stabilita alikvotu závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Byla stanovena pro sady QIAsymphony DSP DNA Mini Kit ve spojení s příkladnými následnými aplikacemi. Uživatel je povinen konzultovat návod k použití konkrétní navazující aplikace používané v jeho laboratoři a/nebo ověřit celý pracovní postup za účelem stanovení vhodných podmínek skladování.

Pokud používáte čerstvé krevní vzorky v primárních zkumavkách, před vložením do QIAsymphony SP je důkladně promíchejte (např. několikerým převrácením zkumavek). Zmrazené vzorky je třeba rychle rozmrazit ve vodní lázni o teplotě 37 °C za mírného míchání, aby se zajistilo důkladné promíchání, a poté je před zahájením postupu vyrovnat na pokojovou teplotu (15–25 °C). Pro zajištění spolehlivého přenosu vzorku se vyhněte tvorbě pěny ve zkumavkách. Snažte se zabránit vzniku krevních sraženin ve vzorcích a v případě potřeby přeneste vzorek bez sraženin do čerstvé zkumavky.

Uchovávání eluátů

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 12 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.

Pro krátkodobé skladování eluátů do 7 dnů doporučujeme skladovat purifikovanou nukleovou kyselinu při teplotě 2–8 °C. Pro dlouhodobé skladování doporučujeme skladovat při –20 °C nebo –80 °C.

Poznámka: Stabilita eluátů závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Byla stanovena pro sady QIAsymphony DSP DNA Mini Kit ve spojení s příkladnými následnými aplikacemi. Uživatel je povinen konzultovat návod k použití konkrétní navazující aplikace používané v jeho laboratoři a/nebo ověřit celý pracovní postup za účelem stanovení vhodných podmínek skladování.

Interferující látky

Vzorky krve s vysokou koncentrací triglyceridů (> 30 g/l) mohou vést ke snížení výtěžnosti gDNA.

Poznámka**:** Testování bylo provedeno pomocí příkladných následných aplikací pro posouzení kvality extrahovaných nukleových kyselin. Různé navazující aplikace však mohou mít různé požadavky na čistotu (tj. nepřítomnost potenciálních interferujících látek), takže identifikace a testování příslušných látek musí být rovněž stanoveny jako součást vývoje navazující aplikace pro jakýkoli pracovní postup zahrnující sady QIAsymphony DSP DNA Mini Kit.

Poznámka: Norma ISO 20186-2:2019(E) uvádí, že heparin ze zkumavek na odběr krve může ovlivnit čistotu izolovaných nukleových kyselin a případný přenos do eluátů by mohl způsobit inhibici v některých následných aplikacích. Proto doporučujeme pro přípravu plazmy používat krevní vzorky ošetřené EDTA nebo citrátem jako antikoagulantem.

Symboly

V tomto dokumentu se vyskytují následující symboly. Úplný seznam symbolů použitých v návodu k použití nebo na obalu a označení naleznete v příručce.

Symbol	Definice symbolu
CE	Tento výrobek splňuje požadavky evropského nařízení 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro.
IVD	Zdravotnický prostředek k diagnostice in vitro
REF	Katalogové číslo
Rn	R znamená revizi návodu k použití a n je číslo revize
	Výrobce

Historie revizí

Revize	Popis
R1, červen 2022	Verze 2, revize 1 • Aktualizace na verzi 2 kvůli souladu s nařízením IVD • Doplnění oddílu Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky • Přidání Interferující látky • Přidání oddílu Uchovávání eluátů • Přidání oddílu Symboly • Aktualizace oddílu Příprava materiálu vzorků

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příslušné příručce pro sadu QIAGEN® nebo v uživatelské příručce. Příručky k soupravám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na webových stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat od technické podpory společnosti QIAGEN či místního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company) ; Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.
06/2022 HB-3029-S06-001© 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.