

Instruções de uso (Ficha de protocolo) do QIAsymphony[®] DSP DNA Midi Kit

Protocolo DNA_Buffy_Coat_400_V6 DSP

Versão 2

IVD

Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com o QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (96)

CE

REF

937255



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemanha

R1

A ficha de protocolo está disponível eletronicamente e pode ser encontrada na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Informações gerais

O QIASymphony DSP DNA Kit destina-se ao uso diagnóstico in vitro.

Este protocolo destina-se à purificação do DNA total genômico e mitocondrial do sangue humano total fresco ou congelado usando o QIASymphony SP e o QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

Kit	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (ref. 937255)
Material de amostra	Camada leucoplaquetária (EDTA, citrato ou heparina anticoagulante)
Nome do protocolo	DNA_BC_400_V6_DSP
Conjunto de controle de ensaio padrão	ACS_BC_400_V6_DSP
Editável	Volume de eluição: 200 e 400 µl
Versão de software necessária	Versão 4.0 ou superior
Configuração de software necessária para uso em diagnóstico in vitro	Perfil padrão 1

Gaveta "Sample" (Amostra)

Tipo de amostra	Sangue total humano (EDTA, citrato ou heparina anticoagulante)
Volume de amostra	Depende do tipo de tubo de amostra usado. Para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com .
Tubos de amostra primários	n/a
Tubos de amostra secundários	Para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com .
Introdutores	Depende do tipo de tubo de amostra usado. Para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com .

n/a = não aplicável.

Gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagentes (Reagent cartridge, RC)
Posição B1	n/a
Suporte de rack para ponteiras, 1-17	Ponteiras com filtro descartáveis, 200 ou 1500 µl
Suporte de caixa unitária, 1-4	Caixas unitárias com cartuchos de preparo de amostras ou 8-Rod Covers

n/a = não aplicável.

Gaveta "Waste" (Resíduos)

Suporte de caixa unitária, 1-4	Caixas unitárias vazias
Suporte de saco de resíduos	Saco de resíduos
Suporte de recipiente de resíduos líquidos	Recipiente de resíduos líquidos vazio

Gaveta "Eluate" (Eluato)

Rack de eluição (recomendamos o uso da fenda 1 na posição de resfriamento)

Para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Materiais plásticos necessários

Materiais plásticos	Um lote 24 amostras*	Dois lotes 48 amostras*	Três lotes 72 amostras*	Quatro lotes 96 amostras*
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

* Usar menos de 24 amostras por lote reduz o número de ponteiras com filtro descartáveis necessárias por execução.

[†] Há 32 ponteiras com filtro por rack para ponteiras.

[‡] O número necessário de ponteiras com filtro inclui as ponteiras com filtro para 1 verificação de inventário por RC.

[§] Há 28 cartuchos de preparo de amostras por caixa unitária.

[¶] Há doze 8-Rod Covers por caixa unitária.

Nota: Dependendo das configurações, a quantidade de ponteiras com filtro referida pode diferir da quantidade exibida na tela sensível ao toque. Recomendamos carregar o maior número possível de ponteiras.

Volume de eluição

O volume de eluição é selecionado na tela sensível ao toque. Dependendo do tipo de amostra e do conteúdo de DNA, o volume final de eluato pode variar até 15 µl menos que o volume selecionado. Como o volume de eluato pode variar, recomendamos verificar o volume real do eluato ao usar um sistema de configuração de ensaio automatizado que não verifique o volume de eluato antes da transferência. A eluição em volumes menores aumenta a concentração final de DNA, mas reduz ligeiramente o rendimento. Recomendamos o uso de um volume de eluição adequado para a aplicação a jusante pretendida.

Preparo de material de amostra

Ao trabalhar com produtos químicos, sempre use um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

Para obter recomendações gerais sobre coleta, transporte e armazenamento, consulte a diretriz aprovada MM13-A do CLSI "Coleta, transporte, preparação e armazenamento de espécimes para métodos moleculares". Além disso, as instruções do fabricante, quanto ao dispositivo de coleta de amostras selecionado, devem ser seguidas durante o preparo, armazenamento, transporte e manuseio geral de amostras.

Camada leucoplaquetária

A camada leucoplaquetária é uma fração enriquecida de leucócitos do sangue total. A eficiência do enriquecimento de leucócitos depende do procedimento usado para preparar a camada leucoplaquetária e da precisão com que a camada leucoplaquetária é extraída. Prepare a camada leucoplaquetária centrifugando as amostras de sangue total contendo um anticoagulante padrão (EDTA, citrato ou heparina) em 900–1100 x g por 10 minutos em temperatura ambiente (15–25 °C). Após a centrifugação, 3 frações diferentes são distinguíveis: a camada superior clara é o plasma; a camada intermediária é a camada leucoplaquetária, contendo leucócitos concentrados; e a camada inferior contém eritrócitos concentrados. Aproximadamente 1 ml de fração contendo leucócitos deve ser coletada de 10 ml de sangue total centrifugado, o que, em média, proporciona um enriquecimento de 5 a 6 vezes. Por exemplo, 10 ml de sangue total com uma contagem de glóbulos brancos de 6×10^6 células/ml resulta em 1 ml de camada leucoplaquetária. Assumindo um enriquecimento de 5 vezes de glóbulos brancos, isto resulta em 3×10^7 células / ml. Portanto, em um protocolo que usa 400 µl de camada leucoplaquetária, $1,2 \times 10^7$ células serão usadas.

Para evitar sobrecarregar o procedimento de purificação de DNA, não prepare amostras de camada leucoplaquetária com enriquecimento >10 vezes. Se as amostras de camada leucocitária tiverem enriquecimento >10 vezes, dilua as amostras para obter um enriquecimento de 10 vezes ou menos com PBS ou use menos material inicial no procedimento de purificação de DNA.

As amostras de camada leucoplaquetária podem ser usadas imediatamente ou armazenadas a -20 °C ou -80 °C para a purificação do DNA em uma data posterior. Amostras congeladas devem ser descongeladas rapidamente em banho-maria a 37 °C com agitação moderada, para garantir uma mistura completa e, em seguida, equilibradas em temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar o procedimento. Para garantir uma transferência de amostra confiável, evite gerar espuma nos tubos de amostra. Tente evitar coágulos sanguíneos nas amostras e, se necessário, transfira a amostra sem coágulos para um novo tubo.

Nota: A estabilidade de amostra depende muito de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. O usuário é responsável por consultar as instruções de uso da aplicação a jusante específica usada em seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

Armazenamento de eluatos

Recomenda-se remover a placa de eluato da gaveta "Eluate" (Eluato) imediatamente após o término da execução. As placas de eluição podem ser deixadas no QIAasymphony SP após a conclusão da execução de um dia para outro (máximo de 12 horas incluindo o tempo de execução; condições ambientais recomendadas: 18–26 °C e umidade relativa de 20–75%). Dependendo da temperatura e umidade, o eluato pode sofrer condensação ou evaporação.

Para o armazenamento a curto prazo, os eluatos podem ser armazenados em temperatura ambiente até 2 semanas. Para o armazenamento prolongado, recomendamos o armazenamento a 2–8 °C, -20 °C, ou -80 °C. Os eluatos congelados não devem ser descongelados mais de três vezes.

Nota: A estabilidade do eluato depende muito de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para o QIAasymphony DSP DNA Midi Kit em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. O usuário é responsável por consultar as instruções de uso da aplicação a jusante específica usada em seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

Ponto importante antes de começar

- As partículas magnéticas do QIAasymphony podem copurificar o RNA se ele estiver presente na amostra. Para minimizar o conteúdo de RNA na amostra, adicione RNase A à amostra antes de iniciar o procedimento. A concentração final de RNase A deve ser de 2 mg/ml.

Limitações e substâncias interferentes

As amostras de sangue com altas concentrações de triglicérides (>30 g/l) pode levar a uma redução de rendimento de gDNA.

Nota: Os testes foram realizados usando aplicações a jusante exemplares para uma avaliação da qualidade dos ácidos nucleicos extraídos. Contudo, as diferentes aplicações a jusante podem ter requisitos diferentes em relação à pureza (ou seja, a ausência de substâncias potencialmente interferentes), assim, a identificação e o teste de substâncias relevantes também precisam ser estabelecidos como parte do desenvolvimento de aplicações a jusante para qualquer fluxo de trabalho envolvendo o QIAasymphony DSP DNA Midi Kit.

Nota: Observe que durante o desenvolvimento do QIAasymphony DSP DNA Midi Kit, não foram observadas indicações de que a heparina tenha um impacto negativo no desempenho. Contudo, a ISO 20186-2:2019(E) declara que a heparina dos tubos de coleta de sangue pode afetar a pureza dos ácidos nucleicos isolados e um possível carryover nos eluatos pode causar inibições em algumas aplicações a jusante. Portanto, o usuário é responsável por validar se a heparina tem uma influência negativa em seu fluxo de trabalho.

Símbolos

Os seguintes símbolos aparecem neste documento. Para obter uma lista completa dos símbolos usados nestas instruções de uso ou na embalagem e etiqueta, consulte o manual.

Símbolo	Definição do símbolo
	Este produto atende aos requisitos do Regulamento Europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de referência
Rn	R representa a revisão das Instruções de uso e n representa o número de revisão
	Fabricante

Histórico de revisões

Revisão	Descrição
R1, junho de 2022	Versão 2, Revisão 1 <ul style="list-style-type: none">• Atualização para a versão 2 para conformidade com o IVD• Adição da seção Limitações e substâncias interferentes• Adição da seção Armazenamento de eluatos• Adição da seção Símbolos• Atualização da seção Preparo de material de amostra

Para obter informações atualizadas sobre licenças e avisos legais específicos de produtos, consulte o manual do usuário ou o manual do respectivo kit QIAGEN®. Os manuais do usuário e os manuais de kits QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à Assistência Técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Marcas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Os nomes registrados, as marcas registradas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser considerados protegidos pela lei.
06/2022 HB-3029-S05-001© 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.