



2022. június

QIASymphony® DSP DNA Mini Kit használati útmutató (Protokoll lap)

VirusBlood200_V5_DSP protokoll

2. verzió



In vitro diagnosztikai használatra

A QIASymphony DSP DNA Mini Kit készletekkel való használatra (192)



937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Németország

R1

A protokoll lap elektronikus formátumban áll rendelkezésre, és a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Általános információk

A QIASymphony DSP DNA Kit in vitro diagnosztikai használatra szolgál.

Ez a protokoll a friss humán teljes vérből származó vírus DNS megtisztítására szolgál QIASymphony SP készülék és QIASymphony DSP DNA Mini Kit alkalmazásával. A szabadon keringő vírusokból és a sejtasszociált vírusokból származó vírus DNS tisztítása a vérszövetekből származó genomiális DNS-sel együtt történik.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (katalógusszám: 937236)
Mintaanyag	Humán teljes vér (EDTA-val vagy citráttal alvadásgátolt)
Protokoll neve	VirusBlood200_V5_DSP
Alapértelmezett assay-kontrollkészlet	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Szerkeszthető	Elúciós térfogat: 60, 85, 110 és 165 µl
Szükséges szoftververzió	4.0-s vagy későbbi verzió
Szükséges szoftverkonfiguráció IVD felhasználáshoz	1. alapértelmezett profil

Szükséges, de nem biztosított anyagok

A belső kontroll és a Buffer ATE puffer keverékének elkészítéséhez

- 2 ml-es mintacső (Sarstedt® katalógusszám: 72.693, perem nélküli)
- 2 ml-es mintacső (Sarstedt, katalógusszám: 72.694, peremes)
- BD™ 14 ml Falcon polystyrene round-bottom tube (katalógusszám: 352051)

„Sample” (Minta) fiók

Mintatípus	Humán teljes vér (EDTA-val, citráttal vagy heparinnal alvadásgátolt)
Mintatérfogat	Az alkalmazott mintacső típusától függ; a további információkat lásd a labor eszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Elsődleges mintacsövek	A további információkat lásd a labor eszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Másodlagos mintacsövek	A további információkat lásd a labor eszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Inzertek	Az alkalmazott mintacső típusától függ; a további információkat lásd a labor eszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Egyéb	Belső kontroll és Buffer ATE puffer keveréke szükséges; a belső kontroll alkalmazása opcionális

„Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiók

A1 és/vagy A2 pozíció	Reagenskazetta (RC)
B1 pozíció	n.a.
Hegyalvány-tartó, 1–17.	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 vagy 1500 µl
1–4. számú egységdoboz-tartó	Minta-előkészítő kazettákat vagy 8-Rod Covers burkolatokat tartalmazó egységdobozok

n.a. = nem alkalmazható.

„Waste” (Hulladék) fiók

1–4. számú egységdoboz-tartó	Üres egységdobozok
Hulladékgyűjtő zsák tartója	Hulladékgyűjtő zsák
Folyékonyhulladék-gyűjtő palack tartója	Üres folyékonyhulladék-gyűjtő palack

„Eluate” (Eluátum) fiók

Elúciós állvány (az 1. nyílás, hűtő pozíció alkalmazását javasoljuk)

A további információkat lásd a laboreszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Szükséges műanyag eszközök

Műanyag eszköz	Egy köteg, 24 minta*	Két köteg, 48 minta*	Három köteg, 72 minta*	Négy köteg, 96 minta*
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

* Ha kötegenként 24-nél kevesebb mintát használ, csökken a futtatásonként szükséges egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek száma.

[†] Egy hegytartó állványon 32 darab szűrővel rendelkező hegy van.

^{††} Szűrővel rendelkező hegyek száma reagenskazettánként, az 1 leltárellenőrzéshez szükséges szűrővel rendelkező hegyeket is beleszámítva.

[§] Egy egységdoboz 28 minta-előkészítő kazettát tartalmaz.

[¶] Egy egységdoboz tizenkét 8-Rod Covers burkolatot tartalmaz.

Megjegyzés: A beállítások függvényében a szűrővel rendelkező hegyek megadott száma eltérhet az érintőképernyőn megjelenített számoktól. A lehető legnagyobb számú hegy betöltését javasoljuk.

Kiválasztott elúciós térfogat

Kiválasztott elúciós térfogat (µl)*	Kezdeti elúciós térfogat (µl) [†]
60	90
85	115
110	140
165	195

* Az érintőképernyőn kiválasztott elúciós térfogat. Ez a minimálisan hozzáférhető eluátumtérfogat a végleges elúciós csőben.

[†] Az a kezdeti elúciós térfogat, amely ahhoz szükséges, hogy az eluátum tényleges térfogata megegyezzen a kiválasztott térfogattal.

A belső kontroll és a Buffer ATE puffer keverékének elkészítése

Ha a VirusBlood200_V5_DSP protokollt belső kontrollt használó amplifikációs rendszerekkel együtt alkalmazza, akkor lehet, hogy ezeket a belső kontrollokat be kell vezetni a tisztítási eljárásba, hogy a minta-előkészítés és a downstream assay hatásosságát nyomon lehessen követni.

A hozzáadandó belső kontroll mennyisége az assay-rendszertől és a VirusBlood200_V5_DSP protokollban kiválasztott elúciós térfogattól függ. A számítást és a validálást a felhasználónak kell elvégeznie. A belső kontroll optimális koncentrációjának megállapításához olvassa el a downstream assay gyártójának utasításait.

A belső kontrollokat a belső kontroll és a Buffer ATE puffer keverékeként kell hozzáadni 60 µl össz mennyiségben. Belső kontrollok keverékével ugyanabból az eluátumból különböző paraméterek is vizsgálhatók. A különböző belső kontrollok összeférhetőségét a felhasználónak kell validálnia. Javasoljuk, hogy minden futtatáshoz készítsen friss keveréket közvetlenül a felhasználás előtt. Akkor is szükséges a Buffer ATE puffer használata, ha nem használ belső kontrollt.

Kiválasztott elúciós térfogat (µl)	Kezdeti elúciós térfogat (µl)	Belső kontroll térfogata (µl)*	Buffer ATE puffer térfogata (ATE) (µl)	Végleges térfogat mintánként (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

* A belső kontroll mennyiségének kiszámítása a kezdeti elúciós térfogat alapján történik. A további holtterefogat az IC elegyhez használt mintacsó típusától függ; további információért lásd a www.qiagen.com weboldalon elérhető laboreshozközlistát.

Megjegyzés: A táblázatban feltüntetett értékek a milliliterenként 0,1 µl belső kontrollt tartalmazó eluátumot igénylő downstream assay-hez használt belső kontroll-Buffer ATE puffer keverék elkészítéséhez használhatók.

A belső kontroll és Buffer ATE puffer keverékét tartalmazó csöveket csőtartóba kell tenni. A belső kontroll és a Buffer ATE puffer keverékét tartalmazó csőtartót a „Sample” (Minta) fiók A nyílásába kell helyezni.

A feldolgozni kívánt minták számától függően 2 ml-es csövek (Sarstedt, katalógusszám: 72.693 és 72.694) vagy 14 ml-es, 17 x 100 mm-es, kerek aljú polisztirol csövek (BD, katalógusszám: 352051) használatát ajánljuk a belső kontroll hígításához, az alábbi táblázatban leírtaknak megfelelően. Lehetőség van a térfogat 2 vagy több csőbe való szétosztására.

A belső kontroll keverék térfogatának kiszámítása

Csőtípus*	QIASymphony érintőképernyőn megjelenő név	A belső kontroll keverék térfogatának kiszámítása csövenként
2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, katalógusszám: 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 60 µl) + 360 µl†
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt, katalógusszám: 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 60 µl) + 360 µl†
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD, katalógusszám: 352051)	BD#352051 FalconPP 17 x 100	(n x 60 µl) + 600 µl‡

* A szükséges inzer(ek)et lásd a laboreshozközök listáján, amely az alábbi weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el: www.qiagen.com.

† Ezt az egyenletet használja a belső kontroll keverék szükséges térfogatának kiszámításához (n = minták száma; 60 µl = belső kontroll-Buffer ATE puffer keverék térfogata; 360 µl = csövenként szükséges holtterefogat). 12 minta esetén például (n = 12): (12 x 60 µl) + 360 µl = 1080 µl. Ne töltsön a csőbe 1,92 ml-nél nagyobb mennyiséget (azaz csövenként legfeljebb 26 minta legyen). Amennyiben 26-nál több mintát dolgoz fel, használjon további csöveket, és győződjön meg arról, hogy hozzászámolta a holtterefogatot a csövekhez.

‡ Ezt az egyenletet használja a belső kontroll-ATE puffer keverék szükséges térfogatának kiszámításához (n = minták száma; 60 µl = belső kontroll-Buffer ATE puffer keverék térfogata; 600 µl = csövenként szükséges holtterefogat). 96 minta esetén például (n = 96): (96 x 60 µl) + 600 µl = 6360 µl.

A mintaanyag előkészítése

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információk a megfelelő biztonsági adatlapokon (Safety Data Sheets, SDS-ek) találhatóak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetőek be.

Az általános mintagyűjtési, szállítási és tárolási ajánlásokért lásd a jóváhagyott CLSI irányelvet, MM13-A „Minták gyűjtése, szállítása, előkészítése és tárolása molekuláris módszerekhez”. Továbbá, a minta előkészítése, tárolása, szállítása és általános kezelése során be kell tartani a kiválasztott mintavételi eszköz gyártójának utasításait.

Humán teljes vér

A vírus DNS izolálásához EDTA-val vagy citráttal kezelt teljesvér-minták alkalmazását javasoljuk. Rövid távú, legfeljebb 7 napos tárolás esetén 2–8 °C-on történő tárolás ajánlott. Hosszabb távú tároláshoz javasoljuk, hogy fagyasszon le alikvotokat – legfeljebb 3 hónapos tároláshoz -20 °C-on, legfeljebb 1 éves tároláshoz -80 °C-on.

Megjegyzés: A minták stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. Meghatározását a QIASymphony DSP DNA Mini Kit esetében példa downstream alkalmazásokkal végezték el. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

Friss vérminták elsődleges csövekben történő alkalmazása esetén keverje össze alaposan a vérmintákat (pl. a csövek többszöri megfordításával), mielőtt betöltené őket a QIASymphony SP készülékbe. A fagyasztott mintákat az eljárás megkezdése előtt 37 °C-os vízfürdőben gyorsan ki kell olvasztani, eközben az alapos elkeveredés érdekében enyhe mozgatás szükséges, majd a mintákat szobahőmérsékletre kell hozni (15–25 °C). A megbízható mintaátvitel érdekében kerülje a hab kialakulását a mintacsövekben. Próbálja meg elkerülni a vérrögök kialakulását a mintákban, illetve ha szükséges, mérje át a mintát egy friss csőbe a vérrögök nélkül.

Az eluátumok tárolása

A futtatás befejeződését követően javasolt haladéktalanul kivenni az eluátumlemezt az „Eluate” (Eluátum) fiókból. Az elúciós lemezek a QIASymphony SP készülékben hagyhatók, miután éjszaka befejeződött a futtatás (legfeljebb 12 óra, beleértve a futtatási időt; javasolt környezeti feltételek: 18–26 °C hőmérséklet és 20–75% relatív páratartalom). A hőmérséklettől és a páratartalomtól függően páralecsapódás vagy párolgás fordulhat elő az eluátumban.

Az eluátumok rövid távú, legfeljebb 7 napos tárolásához a tisztított nukleinsavakat 2–8 °C-on javasoljuk tárolni. Hosszú távra a -20 °C-on vagy -80 °C-on történő tárolást javasoljuk.

Megjegyzés: Az eluátum stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. Meghatározását a QIASymphony DSP DNA Mini Kit esetében példa downstream alkalmazásokkal végezték el. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

Zavaró anyagok





A vérmintákban a trigliceridek magas koncentrációja (>30 g/l) csökkent gDNS-hozamot okozhat.

Megjegyzés: A vizsgálatot példa downstream alkalmazásokkal végezték az extrahált nukleinsavak minőségének értékelése érdekében. Azonban az eltérő downstream alkalmazásokhoz eltérő tisztaságra lehet szükség (pl. a potenciálisan zavaró anyagok hiánya), ezért az adott anyagok azonosítása és vizsgálata szükséges a downstream alkalmazás kidolgozása során, a QIASymphony DSP DNA Mini Kitet alkalmazó munkafolyamatok esetében.

Megjegyzés: Az ISO 20186-2:2019(E) szabvány szerint a vérvételi csövekben lévő heparin befolyásolhatja az izolált nukleinsavak tisztaságát, és annak átszennyezése az eluátumba gátlást okozhat egyes downstream alkalmazások esetében. Ezért javasoljuk, hogy a plazmapreparáláshoz használjon EDTA vagy citrát antikoagulánssal kezelt vérmintákat.

Szimbólumok

A dokumentumban az alábbi szimbólumok szerepelnek. A használati útmutatóban vagy a csomagoláson és címkéken használt szimbólumok teljes listáját lásd a kézikönyvben.

Szimbólum	A szimbólum meghatározása
	Ez a termék megfelel az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökre vonatkozó 2017/746 számú európai rendelet követelményeinek.
	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Katalógusszám
Rn	Az R a Használati útmutató átdolgozását, az n pedig az átdolgozás számát jelöli
	Gyártó

Átdolgozási előzmények

Átdolgozás

Leírás

R1, 2022. június

2. verzió, 1. átdolgozás

- Frissítés a 2. verzióra az IVD megfelelőséghez
- Szükséges, de nem biztosított anyagok című rész hozzáadása
- Zavaró anyagok című rész hozzáadása
- Az eluátumok tárolása című rész hozzáadása
- Szimbólumok című rész hozzáadása
- A mintaanyag előkészítése című rész frissítése

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN® kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói kézikönyvei a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvény védelmén kívül esőnek, ha nincsenek külön jelöléssel ellátva.
06/2022 HB-3029-S06-001© 2022 QIAGEN, minden jog fenntartva.