

decembrie 2017

Fișă de protocol QIAasymphony® SP

VirusBlood200_V5_DSP protocol

Acest document este *Fișa de protocol QIAasymphony SP, R2 VirusBlood200_V5_DSP*, pentru QIAasymphony DSP DNA Mini Kit, versiunea 1.

Informații generale

QIASymphony DSP DNA Kit este destinat utilizării pentru diagnostic in vitro.

Acest protocol este destinat purificării ADN-ului viral din sânge integral uman proaspăt, utilizând QIASymphony SP și QIASymphony DSP DNA Mini Kit. ADN-ul viral din virusurile eliberate, precum și din virusurile asociate cu celulele, este copurificat cu ADN genomic din celulele sanguine.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (cat. nr. 937236)
Material de probă	Sânge integral uman (EDTA sau citrat anticoagulant)
Denumire protocol	VirusBlood200_V5_DSP
Set implicit de control al dozării	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Editabil	Volum de eluție: 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
Versiune software necesară	Versiunea 4.0 sau mai recentă

Sertarul „Sample” (Probă)

Tip probă	Sânge integral uman (EDTA sau citrat anticoagulant)
Volum probă	Depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizat; pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Eprubete pentru probă primare	Pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Eprubete pentru probă secundare	Pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Elemente de inserție	Depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizat; pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Altele	Amestec substanță de control internă—soluție tampon ATE necesar; utilizarea substanței de control interne este opțională

Sertarul „Reagents and Consumables” (Reactivi și consumabile)

Poziția A1 și/sau A2	Cartuș cu reactivi
Poziția B1	n/a
Support al stativului pentru vârfuri 1–17	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 µl sau 1500 µl
Support al cutiilor individuale 1–4	Cutii individuale care conțin cartușe pentru prepararea probelor sau învelișuri pentru 8 tije

n/a = nu se aplică.

Sertarul „Waste” (Deșeuri)

Suport al cutiilor individuale 1–4	Cutii individuale goale
Suport al pungilor pentru deșeuri	Pungă pentru deșeuri
Suport al flaconului de deșeuri lichide	Flacon de deșeuri lichide gol

Sertarul „Eluate” (Eluat)

Stativ de eluție (recomandăm utilizarea fantei 1, poziție de răcire)	Pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
---	--

Componente din plastic necesare

	Un lot, 24 de probe*	Două loturi, 48 de probe*	Trei loturi, 72 de probe*	Patru loturi, 96 de probe*
Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 µl ^{†‡}	26	50	74	98
Vârfuri cu filtru de unică folosință, 1500 µl ^{†‡}	98	188	278	368
Cartușe de preparare a probei [§]	21	42	63	84
Învelișuri pentru 8 tije [¶]	3	6	9	12

* Utilizarea mai multor substanțe de control interne pe lot și efectuarea mai multor scanări ale inventarului necesită vârfuri cu filtru de unică folosință suplimentare. Utilizarea a mai puțin de 24 de probe pe lot scade numărul de vârfuri cu filtru de unică folosință necesar pentru fiecare testare.

† Există 32 de vârfuri cu filtru/stativ pentru vârfuri.

‡ Numărul de vârfuri cu filtru necesare include vârfuri cu filtru pentru 1 scanare a inventarului pe cartuș cu reactivi.

§ Există 28 de cartușe de preparare a probei/cutie individuală.

¶ Există douăsprezece învelișuri pentru 8 tije/cutie individuală.

Notă: Numărul specificat de vârfuri cu filtru poate diferi de numărul afișat pe ecranul tactil, în funcție de setări. Recomandăm încărcarea unui număr maxim posibil de vârfuri.

Volum de eluție selectat

Volum de eluție selectat (µl)*	Volum de eluție inițial (µl) [†]
60	90
85	115
110	140
165	195

* Volumul de eluție selectat pe ecranul tactil. Acesta este volumul minim accesibil de eluat din eprubeta de eluție finală.

† Volumul inițial de soluție de eluție necesară pentru a se asigura că volumul de eluat propriu-zis este același cu volumul selectat.

Prepararea amestecului substanță de control internă–soluție tampon ATE

Utilizarea protocolului VirusBlood200_V5_DSP împreună cu sisteme de amplificare care utilizează un control intern poate necesita introducerea acestor controale interne în procedura de purificare, în scopul monitorizării eficacității preparării probele și a dozării din aval.

Cantitatea de control intern adăugat depinde de sistemul de dozare și de volumul de eluție ales în cadrul protocolului VirusBlood200_V5_DSP. Calcularea și validarea trebuie să fie efectuate de utilizator. Pentru a determina concentrația optimă de control intern, consultați instrucțiunile producătorului pentru dozarea din aval.

Substanțele de control interne trebuie adăugate împreună cu amestecul (ATE) substanță de control internă – soluție tampon ATE, într-un volum total de 60 µl. Pentru analizarea diferiților parametri dintr-un singur eluat se poate utiliza un amestec de substanțe de control interne. Compatibilitatea diferitelor substanțe de control interne trebuie validată de către utilizator. Se recomandă să preparați amestecuri proaspete pentru fiecare ciclu de funcționare, chiar înainte de utilizare. Dacă nu se folosește nicio substanță de control internă, tot este necesară utilizarea soluției tampon ATE.

Volum de eluție selectat (µl)	Volum de eluție inițial (µl)	Volum substanță de control internă (µl)*	Volum soluție tampon ATE (ATE) (µl)	Volum final pe probă (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

* Calculul cantității de substanță de control internă se bazează pe volumele de eluție inițiale. Volumul suplimentar al golurilor depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizate; consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks pentru mai multe informații.

Notă: Valorile afișate în tabel se referă la prepararea amestecului substanță de control internă–soluție tampon ATE pentru un test în aval, care necesită 0,1 µl substanță de control internă/µl eluat.

Eprubetele care conțin amestecuri de substanță de control internă–soluție tampon ATE sunt introduse într-un suport de eprubete. Suportul eprubetelor care conțin amestecul (amestecurile) substanță de control internă–soluție tampon ATE trebuie introdus în fanta A a sertarului „Sample” (Probă).

În funcție de numărul de probe care trebuie procesate, recomandăm utilizarea eprubetelor de 2 ml (Sarstedt®, cat. nr. 72.693 și 72.694) sau eprubetele de 14 ml 17 x 100 mm din polistiren, cu fundul rotund (Becton Dickinson (BD™), cat. nr. 352051) pentru diluarea substanței de control

interne, conform celor descrise în tabelul de mai jos. Volumul poate fi împărțit în 2 sau mai multe eprubete.

Calculul volumului amestecului de substanță de control internă

Tip eprubetă [†]	Nume pe ecranul tactil QIASymphony	Calculul volumului amestecului de substanță de control internă pe eprubetă
2 ml cu capac; microeprubetă 2 ml, PP, CU GULER, (Sarstedt, cat. nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microeprubetă 2 ml cu capac; microeprubetă 2 ml, PP, FĂRĂ GULER, (Sarstedt, cat. nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Eprubetă 14 ml, 17 x 100 mm din polistiren, cu fund rotund (Becton Dickinson, cat. nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\ddagger$

* Utilizați această ecuație pentru a calcula volumul necesar de amestec de substanță de control internă (n = numărul probelor; $60 \mu\text{l}$ = volumul amestecului substanță de control internă–soluție tampon ATE; $360 \mu\text{l}$ = volumul goluilor necesar pe eprubetă). De exemplu, pentru 12 probe ($n = 12$):
 $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Nu umpleți eprubeta cu mai mult de 1,92 ml (adică maxim 26 de probe pe eprubetă). Dacă vor fi procesate mai mult de 26 de probe, utilizați eprubete suplimentare, asigurându-vă că volumul goluilor este adăugat la fiecare eprubetă în parte.

† Utilizați această ecuație pentru a calcula volumul necesar de amestec substanță de control internă–soluție tampon ATE (n = numărul probelor;
 $60 \mu\text{l}$ = volumul amestecului substanță de control internă–soluție tampon ATE; $600 \mu\text{l}$ = volumul goluilor necesar pe eprubetă). De exemplu, pentru 96 probe ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

‡ Consultați www.qiagen.com/goto/dsphanbooks pentru elementele de inserție necesare.

Prepararea probelor

Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvate. Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de siguranță (Safety Data Sheets, SDS) corespunzătoare, disponibile de la furnizorul produsului.

Sânge integral uman

Pentru izolarea ADN-ului viral, recomandăm utilizarea probelor de sânge integral, tratate cu EDTA sau cu citrat. Probele trebuie procesate în termen de 24 de ore de la recoltare. Depozitați și transportați probele la 2–25 °C. Pentru o depozitare mai îndelungată, recomandăm congelarea alicotelor la –20 °C sau la –80 °C.

Dacă utilizați probe de sânge proaspete în eprubetele primare, amestecați bine probele de sânge (de exemplu, prin răsturnarea de câteva ori a eprubetelor), înainte de a le încărca pe QIASymphony SP. Pentru a garanta un transfer sigur al probei, evitați generarea spumei în eprubetele pentru probă. Încercați să evitați cheagurile de sânge în probe și, dacă este necesar, transferați proba fără cheaguri într-o eprubetă nouă.

Istoricul revizuirilor

Istoricul revizuirilor documentului	
R2 12/2017	Actualizare pentru software-ul QIASymphony versiunea 5.0

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN® respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kit-urile QIAGEN sunt disponibile pe www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciul tehnic QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™, (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege.
12/2017 HB-0977-S07-002 © 2017 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

Pentru comenzi www.qiagen.com/shop | Suport tehnic support.qiagen.com | Site web www.qiagen.com