

Grudzień 2017

Karta protokołu QIASymphony[®] SP

Protokół VirusBlood200_V5_DSP

Niniejszy dokument to *karta protokołu QIASymphony SP VirusBlood200_V5_DSP R2* dla zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit, wersja 1.

Informacje ogólne

Zestaw QIASymphony DSP DNA Kit jest przeznaczony do diagnostyki in vitro.

Niniejszy protokół służy do oczyszczania wirusowego DNA ze świeżej ludzkiej krwi pełnej za pomocą aparatu QIASymphony SP i zestawu QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Wirusowe DNA z uwolnionych wirusów oraz z wirusów związanych z komórkami jest oczyszczane wraz z genomowym DNA z komórek krwi.

Zestaw	Zestaw QIASymphony DSP DNA Mini Kit (nr kat. 937236)
Materiał próbki	Ludzka krew pełna (antykoagulowana EDTA lub cytrynianem)
Nazwa protokołu	VirusBlood200_V5_DSP
Domyślny zestaw ustawień kontrolnych badania	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Możliwość dostosowania	Objętość elucji: 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
Wymagana wersja oprogramowania	Wersja 4.0 lub wyższa

Szuflada „Sample” (Próbka)

Typ próbki	Ludzka krew pełna (antykoagulowana EDTA lub cytrynianem)
Objętość próbki	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Próbki pierwotne	Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Próbki dodatkowe	Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Wkłady	Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Inne	Wymagana mieszanina kontrola wewnętrzna-bufor ATE; użycie kontroli wewnętrznej jest opcjonalne

Szuflada „Reagents and Consumables” (Odczynniki i materiały eksploatacyjne)

Pozycja A1 i/lub A2	Kartridż z odczynnikiem
Pozycja B1	nd.
Uchwyt na statyw na końcówki 1–17	Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl lub 1500 µl
Uchwyt na opakowania jednostkowe 1–4	Opakowania jednostkowe zawierające kartridże sample prep lub zamknięcia 8-szyftowe

nd. = nie dotyczy.

Szuflada „Waste” (Odpady)

Uchwyt na opakowania jednostkowe 1–4	Puste opakowania jednostkowe
Uchwyt na worek na odpady	Worek na odpady
Uchwyt na butlę na odpady płynne	Pusta butla na odpady płynne

Szuflada „Eluate” (Eluat)

Statyw elucji (zalecamy używanie gniazda 1, pozycji chłodzenia)	Więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego

	Jedna partia, 24 próbki*	Dwie partie, 48 próbek*	Trzy partie, 72 próbki*	Cztery partie, 96 próbek*
Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl ^{††}	26	50	74	98
Jednorazowe końcówki z filtrem, 1500 µl ^{††}	98	188	278	368
Kartridże sample prep [§]	21	42	63	84
Zamknięcia 8-szyftowe [¶]	3	6	9	12

* Użycie więcej niż jednej kontroli wewnętrznej na jedną partię oraz przeprowadzenie więcej niż jednego skanowania inwentaryzującego wymaga dodatkowych jednorazowych końcówek z filtrem. W przypadku używania mniej niż 24 próbek na jedną partię zmniejsza się liczba jednorazowych końcówek z filtrem wymaganych na cykl.

[†] Statyw na końcówki zawiera 32 końcówki z filtrem.

^{††} Liczba wymaganych końcówek z filtrem obejmuje końcówki z filtrem dla 1 skanowania inwentaryzującego na kartridż z odczynnikami.

[§] Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kartridży sample prep.

[¶] Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-szyftowych.

Uwaga: Podane liczby końcówek z filtrem mogą różnić się od liczb wyświetlanych na ekranie dotykowym w zależności od ustawień. Zalecamy załadowanie maksymalnej możliwej liczby końcówek.

Wybrana objętość elucji

Wybrana objętość elucji (µl)*	Początkowa objętość elucji (µl) [†]
60	90
85	115
110	140
165	195

* Objętość elucji wybrana na ekranie dotykowym. Jest to minimalna dostępna objętość eluatu w końcowej probówce elucji.

[†] Początkowa objętość roztworu elucji wymagana do zapewnienia właściwej objętości eluatu, równej wcześniej wybranej wartości.

Przygotowanie mieszaniny kontrola wewnętrzna–bufor ATE

Stosowanie protokołu VirusBlood200_V5_DSP z systemami amplifikacji, które wykorzystują kontrolę wewnętrzną, może wymagać wprowadzenia tych kontroli wewnętrznych do procedury oczyszczania w celu monitorowania wydajności przygotowywania próbki i dalszych analiz.

Ilość dodawanej kontroli wewnętrznej zależy od systemu oznaczenia oraz objętości elucji wybranej w protokole VirusBlood200_V5_DSP. Użytkownik jest odpowiedzialny za wykonanie obliczeń i walidację. W celu ustalenia optymalnego stężenia kontroli wewnętrznej należy zapoznać się z instrukcjami producenta dotyczącymi dalszej analizy.

Kontrole wewnętrzne należy dodawać z mieszaniną kontrola wewnętrzna–bufor ATE (ATE) w całkowitej objętości 60 µl. Mieszaniny kontroli wewnętrznych można użyć do analizowania różnych parametrów jednego eluatu. Użytkownik jest odpowiedzialny za walidację zgodności różnych kontroli wewnętrznych. Zaleca się przygotowanie świeżych mieszanin tuż przed każdym cyklem pracy. Bufor ATE jest wymagany, nawet jeśli nie jest używana kontrola wewnętrzna.

Wybrana objętość elucji (µl)	Początkowa objętość elucji (µl)	Objętość kontroli wewnętrznej (µl)*	Objętość buforu ATE (ATE) (µl)	Końcowa objętość na próbkę (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

* Obliczenie ilości kontroli wewnętrznej opiera się na początkowych objętościach elucji. Dodatkowa objętość nieużyteczna zależy od typu użytej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Uwaga: Wartości widoczne w tabeli służą do przygotowania mieszaniny kontrola wewnętrzna–bufor ATE dla dalszej analizy, w której wymagane jest 0,1 µl kontroli wewnętrznej na µl eluatu.

Probówki zawierające mieszaninę kontrola wewnętrzna–bufor ATE są umieszczane w nośniku probówek. Nośnik probówek zawierający mieszaninę(-ny) kontrola wewnętrzna–bufor ATE należy umieścić w gnieździe A szuflady „Sample” (Próbka).

W zależności od liczby przetwarzanych próbek zalecamy używanie probówek o pojemności 2 ml (Sarstedt®, nr kat. 72.693 i 72.694) lub probówek polistyrenowych z okrągłym dnem 17 x 100 mm o pojemności 14 ml (Becton Dickinson (BD™), nr kat. 352051) w celu rozcieńczenia kontroli wewnętrznej w sposób opisany w poniższej tabeli. Objętość można rozdzielić na 2 lub więcej probówek.

Obliczanie objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej

Typ probówki [‡]	Nazwa wyświetlona na ekranie dotykowym aparatu QIAsymphony	Obliczanie objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej na probówkę
2 ml z wieczkiem; mikroprobówka 2 ml, PP, STOŻKOWE DNO W KOŁNIERZU PRZEDŁUŻAJĄCYM (Sarstedt, nr kat. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikroprobówka 2 ml z wieczkiem, mikroprobówka 2 ml, PP, BEZ STOŻKOWEGO DNA W KOŁNIERZU PRZEDŁUŻAJĄCYM (Sarstedt, nr kat. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Probówka 14 ml, 17 x 100 mm polistyrenowa z okrągłym dnem (Becton Dickinson, nr kat. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej (n = liczba próbek; $60 \mu\text{l}$ = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna-bufor ATE; $360 \mu\text{l}$ = objętość nieużyteczna wymagana na każdą probówkę). Na przykład dla 12 próbek ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Nie napełniać probówki do objętości większej niż 1,92 ml (tj. maksymalnie 26 próbek na probówkę). Jeśli będzie przetwarzanych więcej niż 26 próbek, użyć dodatkowych probówek, upewniając się, że objętość nieużyteczna została dodana do każdej probówki.

[†] To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontrola wewnętrzna-bufor ATE (n = liczba próbek; $60 \mu\text{l}$ = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna-bufor ATE; $600 \mu\text{l}$ = objętość nieużyteczna wymagana na każdą probówkę). Na przykład dla 96 próbek ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

[‡] Informacje o wymaganych wkładach znajdują się na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Przygotowanie materiału próbki

W czasie pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze używać odpowiedniego fartucha laboratoryjnego, rękawiczek jednorazowych i okularów ochronnych. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z kartami charakterystyki (Safety Data Sheet, SDS) uzyskanymi od producentów poszczególnych produktów.

Ludzka krew pełna

W celu izolacji wirusowego DNA zalecamy użycie próbek krwi pełnej z dodatkiem EDTA lub cytrynianu. Próbki należy przetworzyć w ciągu 24 godzin od pobrania. Próbki należy przechowywać lub transportować w temperaturze 2–25°C. W celu dłuższego przechowywania zalecamy zamrożenie porcji w temperaturze –20°C lub –80°C.

W przypadku używania świeżych próbek krwi w probówkach pierwotnych przed załadowaniem ich do aparatu QIAsymphony SP należy je dokładnie wymieszać (np. kilka razy odwracając probówkę). Aby zapewnić niezawodne przeniesienie próbki, nie dopuszczać do wytworzenia się piany w probówkach. Starać się nie dopuścić do wytworzenia skrzepów krwi w próbkach i, w razie potrzeby, przenieść próbkę bez skrzepów do świeżej probówki.

Historia zmian

Historia zmian dokumentu	
R2 12/2017	Aktualizacja dla wersji 5.0 oprogramowania QIASymphony

Aktualne informacje licencyjne oraz wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN®. Instrukcje obsługi lub podręczniki użytkownika zestawu QIAGEN są dostępne w witrynie www.qiagen.com. Można je także zamówić w serwisie technicznym lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™, (Becton, Dickinson and Company); Sarsted® (Sarstedt AG and Co.). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.
12/2017 HB-0977-S07-002 © 2017 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

Składanie zamówień www.qiagen.com/shop | Pomoc techniczna support.qiagen.com | Strona WWW www.qiagen.com