

decembrie 2017

Fișă de protocol QIAasymphony[®] SP

Cellfree200_V7_DSP protocol

Acest document este *Fișa de protocol QIAasymphony SP, R2 Cellfree200_V7_DSP*, pentru QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit, versiunea 1.

Informații generale

QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit este destinat utilizării pentru diagnostic in vitro.

Kit	QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Material de probă*	Plasmă, ser și lichid cefalorahidian (cerebrospinal fluid, CSF)
Denumire protocol	Cellfree200_V7_DSP
Set implicit de control al dozării	ACS_Cellfree200_V7_DSP_default_IC
Editabil	Volum eluat: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Versiune software necesară	Versiunea 4.0 sau mai recentă

* Pentru informații suplimentare, consultați secțiunile „Prepararea probelor” și „Limitări”, pagina 5.

Sertarul „Sample” (Probă)

Tip probă	Plasmă, ser și lichid cefalorahidian (cerebrospinal fluid, CSF)
Volum probă	Depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizat; pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Eprubete pentru probă primare	Consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks pentru informații suplimentare
Eprubete pentru probă secundare	Consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks pentru informații suplimentare
Elemente de inserție	Depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizat; pentru mai multe informații, consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Altele	Amestec ARN de transport (CARRIER) – soluție tampon AVE necesar; utilizarea substanței de control interne este opțională

Sertarul „Reagents and Consumables” (Reactivi și consumabile)

Poziția A1 și/sau A2	Cartuș cu reactivi (Reagent cartridge, RC)
Poziția B1	nu se aplică
Suport al stativului pentru vârfuri 1–17	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 µl
Suport al stativului pentru vârfuri 1–17	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 1500 µl
Suport al cutiilor individuale 1–4	Cutii individuale care conțin cartușe pentru prepararea probelor
Suport al cutiilor individuale 1–4	Cutii individuale care conțin învelișuri pentru 8 tije

n/a = nu se aplică.

Sertarul „Waste” (Deșeuri)

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

Sertarul „Eluate” (Eluat)

Stativ de eluție (recomandăm utilizarea fantei 1, poziție de răcire)	Consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks pentru informații suplimentare
--	--

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 μ l†‡	30	54	78	102
Vârfuri cu filtru de unică folosință, 1500 μ l†‡	101	182	271	354
Cartușe de preparare a probei§	21	42	63	84
Învelișuri pentru 8 tije¶	3	6	9	2

* 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, de exemplu, numărul de substanțe de control interne utilizate pe lot.

Volum de eluție selectat

Volum de eluție selectat (μ l)*	Volum de eluție inițial (μ l)†
60	90
85	115
110	140

* 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 asigura că volumul de eluat propriu-zis este același cu volumul selectat.

Prepararea amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE)

Volum de eluție selectat (μl)	Volum ARN de transport (CARRIER) standard (μl)	Volum substanță de control internă (μl)*	Volum soluție tampon AVE (AVE) (μl)	Volum final pe probă (μl)
60	2,5	9	108,5	120
85	2,5	11,5	106	120
110	2,5	14	103,5	120

* 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–ARN de transport (CARRIER) pentru un test în aval, care necesită 0,1 μl substanță de control internă/μl eluat.

Eprubetele care conțin amestec de substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE) sunt introduse într-un suport de eprubete. Suportul de eprubete care conțin amestecul (amestecurile) de substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE) trebuie introdus în fanta A a sertarului pentru probe.

În funcție de numărul de probe care trebuie procesate, recomandăm utilizarea tuburilor de 2 ml (Sarstedt, cat. nr. 72.693 sau 72.694) sau a eprubetelor de 14 ml 17 x 100 mm din polistiren, cu fund rotund (Becton Dickinson, cat. nr. 352051) pentru diluarea substanței de control interne, conform descrierii din 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 substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE) pe eprubetă
Microeprubetă 2 ml cu capac; microeprubetă 2 ml, PP, CU GULER, (Sarstedt, cat. nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microeprubetă 2 ml cu capac; microeprubetă 2 ml, PP, FĂRĂ GULER, (Sarstedt, cat. nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Eprubetă 14 ml, 17 x 100 mm din polistiren, cu fund rotund (Becton Dickinson, cat. nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utilizați această ecuație pentru a calcula volumul necesar de amestec de substanță de control internă (n = numărul probelor; $120 \mu\text{l}$ = volumul amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = volumul golurilor necesar pe eprubetă). De exemplu, pentru 12 probe ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Nu umpleți eprubeta mai mult de 1,9 ml (adică maxim 12 de probe pe eprubetă). Dacă vor fi procesate mai mult de 12 de probe, utilizați eprubete suplimentare, asigurându-vă că volumul golurilor este adăugat la fiecare eprubetă în parte.

† Utilizați această ecuație pentru a calcula volumul necesar de amestec de substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE) (n = numărul probelor; $120 \mu\text{l}$ = volumul amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = volumul golurilor necesar pe eprubetă). De exemplu, pentru 96 probe ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12.120 \mu\text{l}$.

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

Utilizarea instrumentarului de laborator FIX

Utilizarea detecției nivelului de lichid (liquid-level detection, LLD) pentru transferul probei permite utilizarea eprubetelor primare și a celor secundare. Totuși, aceasta necesită anumite volume moarte în eprubetele respective. Pentru a reduce la minimum volumele moarte, eprubetele secundare trebuie utilizate fără detecția nivelului de lichid. Este disponibil instrumentar de laborator FIX specific (de exemplu, SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), care poate fi selectat și pe ecranul tactil al QIASymphony SP. Acest tip de eprubetă/stativ impune restricții privitoare la aspirare. Proba este aspirată în eprubetă la o anumită înălțime, definită de volumul probei care trebuie transferată. Prin urmare, este esențial să vă asigurați că este folosit volumul menționat în lista instrumentarului de laborator. Listele instrumentarului de laborator sunt disponibile pentru descărcare de la www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Eprubetele pentru probă care pot fi folosite cu sau fără detecția nivelului de lichid, precum și volumele necesare ale probelor, sunt menționate la www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Nu utilizați volume mai mari sau mai mici decât volumul necesar, deoarece acestea pot genera erori în timpul preparării probelor.

Eprubetele destinate utilizării cu detecția nivelului de lichid și eprubetele care nu sunt destinate detecției nivelului de lichid pot fi procesate în cadrul unui singur lot/unei singure testări.

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.

Probe de plasmă, ser și lichid cefalorahidian (cerebrospinal fluid, CSF)

Procedura de purificare este optimizată pentru utilizare cu probele de plasmă, ser sau lichid cefalorahidian (cerebrospinal fluid, CSF). Probele de sânge tratate cu EDTA sau cu citrat pe post de anticoagulant pot fi folosite pentru prepararea plasmei. Probele pot fi proaspete sau congelate, cu condiția să nu fi fost congelate și decongelate de mai multe ori. După recoltare și centrifugare,

plasma, serul sau lichidul cefalorahidian (cerebrospinal fluid, CSF) pot fi depozitate la 2–8 °C timp de maxim 6 ore. Pentru o depozitare mai îndelungată, recomandăm congelarea alicotelor la –20 °C sau la –80 °C. Plasma sau serul congelate nu trebuie decongelate de mai multe ori. Ciclurile repetate de congelare–decongelare duce la denaturarea și precipitarea proteinelor, rezultând o posibilă reducere a titrelor virale și, prin urmare, cantități reduse de acizi nucleici virali. Dacă în probe sunt vizibile crioprecipitate, centrifugați la 6800 x g timp de 3 minute, transferați lichidele supernatante în eprubete noi, fără a tulbura peletii, și inițiați imediat procedura de purificare. Centrifugarea la forțe g mici nu reduce titrele virale.

Limitări

Din probele de sânge tratate cu activator de coagulare a serului pot rezulta cantități reduse de acizi nucleici virali. Nu utilizați eprubete pentru recoltarea sângelui Greiner Bio-One® VACUETTE® care conțin activator Z de coagulare a serului.

Istoricul reviziilor

Istoricul reviziilor 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); Falcon® (Corning, Inc.); Bio-One®, VACUETTE® (Greiner Bio-One GmbH); 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-0301-S33-002 © 2017 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

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