

Δεκέμβριος 2017

Φύλλο Πρωτοκόλλου QIAasymphony[®] SP

Πρωτόκολλο VirusBlood200_V5_DSP

Το παρόν έγγραφο είναι το Φύλλο πρωτοκόλλου του VirusBlood200_V5_DSP QIAasymphony SP, R2, για το κιτ QIAasymphony DSP DNA Mini, έκδοση 1.

Γενικές πληροφορίες

Το κιτ QIASymphony DSP DNA προορίζεται για in vitro διαγνωστική χρήση.

Αυτό το πρωτόκολλο αφορά τον καθαρισμό ιικού DNA από φρέσκο ανθρώπινο ολικό αίμα με χρήση του QIASymphony® SP και του κιτ QIASymphony DSP DNA Mini. Ιικό DNA από απελευθερωμένους όπως και εγκλεισμένους σε κύτταρα ιούς καθαρίζεται ταυτόχρονα με γονιδιωματικό DNA αιμοκυττάρων.

Κιτ	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (αρ. καταλ. 937236)
Υλικό δειγμάτων	Ανθρώπινο ολικό αίμα (με αντιπηκτικό EDTA ή κιτρικά)
Ονομασία πρωτοκόλλου	VirusBlood200_V5_DSP
Προκαθορισμένο σετ μαρτύρων προσδιορισμού	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Διαμορφώσιμο	Όγκος έκλουσης: 60 μl, 85 μl, 110 μl, 165 μl
Απαιτούμενη έκδοση λογισμικού	Έκδοση 4.0 ή νεότερη

Συρτάρι “Sample” (δείγμα)

Τύπος δείγματος	Ανθρώπινο ολικό αίμα (με αντιπηκτικό EDTA ή κιτρικά)
Όγκος δείγματος	Εξαρτάται από τον τύπο σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται. Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Πρώτα σωληνάρια δείγματος	Για περισσότερες πληροφορίες βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Δεύτερα σωληνάρια δείγματος	Για περισσότερες πληροφορίες βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Ένθετα	Εξαρτάται από τον τύπο σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται. Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Άλλα	Απαιτείται μείγμα εσωτερικού μάρτυρα-ρυθμιστικού διαλύματος ATE, η χρήση εσωτερικού μάρτυρα είναι προαιρετική

Συρτάρι “Reagents and Consumables” (αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 και/ή A2	Φύσιγγα αντιδραστηρίων
Θέση B1	δεν εφαρμ.
Στήριγμα θήκης ρυγχών 1–17	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl ή 1500 μl
Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κουτιά μονάδων που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων ή περιβλήματα 8 ράβδων

δεν εφαρμ. = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι “Waste” (απόβλητα)

Στήριγμα κουτιού μονάδων 1–4	Κενά κουτιά μονάδων
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Κενή φιάλη υγρών αποβλήτων

Συρτάρι “Eluate” (έκλουσμα)

Θήκη έκλουσης (συνιστούμε τη χρήση της υποδοχής 1, θέση ψύξης)	Για περισσότερες πληροφορίες βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
--	---

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά

	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες, 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl ^{†‡}	26	50	74	98
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 μl ^{†‡}	98	188	278	368
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων [§]	21	42	63	84
Περιβλήματα 8 ράβδων [¶]	3	6	9	12

* Η χρήση περισσότερων από έναν εσωτερικών μαρτύρων ανά παρτίδα και η εκτέλεση περισσότερων από μίας σάρωσης υλικών απαιτεί πρόσθετα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου. Η χρήση λιγότερων από 24 δειγμάτων ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

[†] Κάθε θήκη ρυγχών περιέχει 32 ρύγχη φίλτρου.

[‡] Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίων.

[§] Κάθε κουτί μονάδων περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων.

[¶] Κάθε κουτί μονάδων περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.

Σημείωση: Ανάλογα με τις εκάστοτε ρυθμίσεις, οι αριθμοί των ρυγχών φίλτρου ενδέχεται να διαφέρουν από εκείνους που προβάλλονται στην οθόνη αφής. Συνιστούμε τη φόρτωση του μέγιστου δυνατού αριθμού ρυγχών.

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης (μl)*	Αρχικός όγκος έκλουσης (μl) [†]
60	90
85	115
110	140
165	195

* Ο όγκος έκλουσης επιλέγεται στην οθόνη αφής. Αυτός ο όγκος είναι ο ελάχιστος διαθέσιμος όγκος εκλούσματος στο τελικό σωληνάριο έκλουσης.

[†] Ο αρχικός όγκος του διαλύματος έκλουσης που απαιτείται προκειμένου να διασφαλισθεί ότι ο πραγματικός όγκος του εκλούσματος είναι ίδιος με τον επιλεγμένο όγκο.

Παρασκευή του μείγματος εσωτερικού μάρτυρα – ρυθμιστικού διαλύματος ATE

Η χρήση του πρωτοκόλλου VirusBlood200_V5_DSP σε συνδυασμό με συστήματα πολλαπλασιασμού που χρησιμοποιούν εσωτερικό μάρτυρα ενδέχεται να απαιτούν εισαγωγή αυτών των εσωτερικών μαρτύρων στη διαδικασία καθαρισμού για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της προετοιμασίας του δείγματος και του καθοδικού προσδιορισμού.

Η ποσότητα του προστιθέμενου εσωτερικού μάρτυρα εξαρτάται από το σύστημα προσδιορισμού και τον όγκο έκλουσης που επιλέγεται μέσα από το πρωτόκολλο VirusBlood200_V5_DSP. Ο υπολογισμός και η επικύρωση πρέπει να εκτελεστούν από το χρήστη. Ανατρέξτε στις οδηγίες του κατασκευαστή για τον καθοδικό προσδιορισμό, για τον καθορισμό της ιδανικής συγκέντρωσης του εσωτερικού μάρτυρα.

Οι εσωτερικοί μάρτυρες πρέπει να προστίθενται με το μείγμα εσωτερικού μάρτυρα–ρυθμιστικού διαλύματος ATE (ATE) σε συνολικό όγκο 60 μ. Για την ανάλυση διαφορετικών παραμέτρων από ένα μεμονωμένο έκλουσμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί μείγμα εσωτερικών μαρτύρων. Η συμβατότητα διαφορετικών εσωτερικών μαρτύρων πρέπει να επικυρώνεται από το χρήστη. Συνιστούμε την προετοιμασία φρέσκων μειγμάτων για κάθε εκτέλεση αμέσως πριν από τη χρήση. Εάν δεν χρησιμοποιείται εσωτερικός μάρτυρας, παραμένει η ανάγκη χρήσης ρυθμιστικού διαλύματος ATE.

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης (μl)	Αρχικός όγκος έκλουσης (μl)	Όγκος εσωτερικού μάρτυρα (μl)*	Όγκος ρυθμιστικού διαλύματος ATE (ATE) (μl)	Τελικός όγκος ανά δείγμα (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

* Ο υπολογισμός της ποσότητας του εσωτερικού μάρτυρα βασίζεται στους αρχικούς όγκους έκλουσης. Ο πρόσθετος κενός όγκος εξαρτάται από τον τύπο σωληναρίου δείγματος που χρησιμοποιείται. Για περισσότερες πληροφορίες, βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Σημείωση: Οι τιμές που εμφανίζονται στον πίνακα αφορούν την παρασκευή μείγματος εσωτερικού μάρτυρα–ρυθμιστικού διαλύματος ATE για καθοδικό προσδιορισμό που απαιτεί 0,1 μl εσωτερικού μάρτυρα ανά μl εκλούσματος.

Τα σωληνάκια που περιέχουν μείγματα εσωτερικού μάρτυρα–ρυθμιστικού διαλύματος ATE τοποθετούνται σε φορέα σωληναρίων. Ο φορέας σωληναρίων που περιέχει το μείγμα/-τα φορέα εσωτερικού μάρτυρα–ρυθμιστικού διαλύματος ATE (ATE) πρέπει να τοποθετείται στην υποδοχή A του συρταριού “Sample”.

Ανάλογα με τον αριθμό των δειγμάτων που θα υποβληθούν σε επεξεργασία, συνιστούμε τη χρήση σωληναρίων των 2 ml (Sarstedt®, αρ. κατ. 72.693 και 72.694) ή σωληνάκια

πολυστυρενίου των 14 ml, στρογγυλού πυθμένα, 17 x 100 mm (Becton Dickinson (BD™), αρ. κατ. 352051) για την αραίωση του εσωτερικού μάρτυρα, όπως περιγράφεται στον παρακάτω πίνακα. Μπορείτε να χωρίσετε τον όγκο σε 2 ή περισσότερα σωληνάρια.

Υπολογισμός του όγκου του μείγματος εσωτερικού μάρτυρα

Τύπος σωληναρίου [†]	Όνομα στην οθόνη αφής QIASymphony	Υπολογισμός του όγκου μείγματος εσωτερικού μάρτυρα ανά σωληνάριο
2 ml με πώμα – μικροσωληνάριο 2 ml, πολυπροπυλενίου (PP), με παρυφή (SKIRTED), (Sarstedt, αρ. κατ. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 60 μl) + 360 μl*
Μικροσωληνάριο 2 ml με πώμα – μικροσωληνάριο 2 ml, πολυπροπυλενίου (PP), χωρίς παρυφή (NON-SKIRTED), (Sarstedt, αρ. κατ. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 60 μl) + 360 μl*
Σωληνάριο των 14 ml, 17 x 100 mm πολυστυρενίου, με στρογγυλό πυθμένα (Becton Dickinson, αρ. προϊόντος 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	(n x 60 μl) + 600 μl [†]

* Χρησιμοποιήστε αυτήν την εξίσωση για τον υπολογισμό του απαιτούμενου όγκου ανά μείγμα εσωτερικού μάρτυρα (n = αριθμός δειγμάτων, 60 μl = όγκος μείγματος εσωτερικού μάρτυρα-ρυθμιστικού διαλύματος ATE, 360 μl = απαιτούμενος κενός όγκος ανά σωληνάριο). Για παράδειγμα, για 12 δείγματα (v = 12): (12 x 60 μl) + 360 μl = 1080 μl. Μη γεμίζετε το σωληνάριο με περισσότερο από 1,92 ml (δηλ. έως και 26 δείγματα ανά σωληνάριο). Εάν πρόκειται να υποβληθούν σε επεξεργασία περισσότερα από 26 δείγματα, χρησιμοποιήστε πρόσθετα σωληνάρια, διασφαλίζοντας πως ανά σωληνάριο προστίθεται ο κενός όγκος.

[†] Χρησιμοποιήστε αυτήν την εξίσωση για τον υπολογισμό του απαιτούμενου όγκου μείγματος εσωτερικού μάρτυρα-ρυθμιστικού διαλύματος ATE (n = αριθμός δειγμάτων, 60 μl = όγκος μείγματος εσωτερικού μάρτυρα-ρυθμιστικού διαλύματος ATE, 600 μl = απαιτούμενος κενός όγκος ανά σωληνάριο). Για παράδειγμα, για 96 δείγματα (v = 96): (96 x 60 μl) + 600 μl = 6360 μl.

[‡] Για τα απαιτούμενα ένθετα ανατρέξτε στη διεύθυνση www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Προετοιμασία του δείγματος

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS), τα οποία και είναι διαθέσιμα από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Ανθρώπινο ολικό αίμα

Για την απομόνωση ιικού DNA, συνιστούμε τη χρήση δειγμάτων ολικού αίματος με προσθήκη EDTA ή κιτρικών. Τα δείγματα θα πρέπει να υποβληθούν σε επεξεργασία εντός 24 ωρών από τη συλλογή. Για τη φύλαξη ή τη μεταφορά των δειγμάτων απαιτείται θερμοκρασία 2–25°C. Για μακροπρόθεσμη φύλαξη συνιστούμε την κατάψυξη κλασμάτων στους –20°C ή –80°C.

Με χρήση δειγμάτων φρέσκου αίματος σε πρώτα σωληνάρια, αναμίξτε σχολαστικά τα δείγματα αίματος (π.χ. αναστρέφοντας επανειλημμένα τα σωληνάρια) προτού τα φορτώσετε στο QIA Symphony SP. Για τη διασφάλιση αξιόπιστης μεταφοράς δείγματος, αποφύγετε το σχηματισμό

αφρού σε σωληνάρια δειγμάτων. Προσπαθήστε να αποφύγετε το σχηματισμό πηγμάτων αίματος στα δείγματα, και εάν χρειαστεί, μεταφέρετε το δείγμα χωρίς πήγματα σε φρέσκο σωληνάριο.

Ιστορικό αναθεώρησης

Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου	
R2 12/2017	Ενημέρωση για το λογισμικό QIASymphony έκδοση 5.0

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του kit QIAGEN®. Τα εγχειρίδια και οι οδηγίες χρήσης των kit QIAGEN είναι διαθέσιμα στη διεύθυνση www.qiagen.com. Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το Τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό σας αντιπρόσωπο.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™, (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Οι καταχωρημένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λ.π. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευμένα από το νόμο, ακόμη και αν δεν επισημαίνονται ειδικά ως τέτοια.
12/2017 HB-0977-S07-002 © 2017 QIAGEN, με την επιφύλαξη κάθε δικαιώματος.

Παραγγελίες www.qiagen.com/shop | Τεχνική υποστήριξη support.qiagen.com | Ιστότοπος www.qiagen.com