

Prosinec 2017

List protokolu QIAasymphony[®] SP

Protokol Cellfree200_V7_DSP

Tento dokument představuje list protokolu Cellfree200_V7_DSP QIA*asymphony* SP, R2, pro sadu QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit, verze 1.

Všeobecné informace

Sada QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit je určena pro diagnostické účely in vitro.

Sada	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Materiál vzorku*	Plazma sérum a CSF
Název protokolu	Cellfree200_V7_DSP
Výchozí kontrolní sada	ACS_Cellfree200_V7_DSP_default_IC
Editovatelné	Objem eluátu: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Vyžadovaná verze softwaru	Verze 4.0 nebo vyšší

* Další informace viz „Příprava materiálu vzorků“ a „Omezení“, strana 5.

Zásuvka „Sample“ (Vzorek)

Typ vzorku	Plazma sérum a CSF
Objem vzorku	Závisí na typu použitých zkumavek na vzorky; další informace získáte na www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Zkumavky primárního vzorku	Další informace viz www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Zkumavky sekundárního vzorku	Další informace viz www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Vložky	Závisí na typu použitých zkumavek na vzorky; další informace získáte na www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Jiné	Nutná je směs nosičové RNA a pufru AVE; použití interní kontroly je volitelné

Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební díly)

Poloha A1 a/nebo A2	Zásobník s reagenty (Reagent cartridge, RC)
Poloha B1	–
Držák se stojánkem pro špičky 1–17	Filtrační špičky k jednorázovému použití, 200 µl
Držák se stojánkem pro špičky 1–17	Filtrační špičky k jednorázovému použití, 1500 µl
Držák jednotkové krabice 1–4	Jednotkové krabice obsahující zásobníky na přípravu vzorků
Držák jednotkové krabice 1–4	Jednotkové krabice obsahující 8hrotové kryty

– = neuvedeno.

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držák jednotkové krabice 1–4	Prázdné jednotkové krabice
Držák odpadních sáčků	Odpadní sáček
Držák nádoby na tekutý odpad	Nádoba na tekutý odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Eluční stojánek (doporučujeme použít chladicí pozici, slot 1)	Další informace viz www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
---	--

Požadované plastové vybavení

	Jedna šarže, 24 vzorků*	Dvě šarže, 48 vzorků*	Tři šarže, 72 vzorků*	Čtyři šarže, 96 vzorků*
Filtrační špičky k jednorázovému použití, 200 µl†‡	30	54	78	102
Filtrační špičky k jednorázovému použití, 1500 µl†‡	101	182	271	354
Zásobníky pro přípravu vzorků§	21	42	63	84
8hrotové kryty¶	3	6	9	2

* Užití více než jedné interní kontroly na jednu sadu a provedení více než jednoho inventárního skenu vyžaduje dodatečné jednorázové špičky s filtrem. Použití méně než 24 vzorků na šarži snižuje počet filtračních špiček k jednorázovému použití požadovaných na jeden cyklus.

† Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

‡ Počet požadovaných filtračních špiček zahrnuje filtrační špičky pro 1 inventární sken na kazetu s reagenty.

§ V jednotkové krabici je 28 kazet s preparáty vzorku.

¶ V jednotkové krabici je dvanáct 8hrotových krytů.

Poznámka: Udávaný počet filtračních špiček se liší od počtu zobrazenému na dotykové obrazovce v závislosti na nastaveních, např. počet interních kontrol použitých na dávku.

Zvolený eluční objem

Zvolený eluční objem (µl)*	Původní eluční objem (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Eluční objem se vybírá na dotykové obrazovce. Toto je minimální dosažitelné množství eluátu ve výsledné eluční zkumavce.

† Původní objem elučního roztoku je vyžadován, aby bylo zajištěno, že skutečný objem eluátu odpovídá zvolenému objemu.

Příprava směsi interní kontroly – nosičové RNA (CARRIER) – pufru AVE (AVE)

Zvolený eluční objem (μl)	Objem základní nosičové RNA (CARRIER) (μl)	Objem interní kontroly (μl)*	Objem pufru AVE (AVE) (μl)	Konečný objem na vzorek (μl)
60	2,5	9	108,5	120
85	2,5	11,5	106	120
110	2,5	14	103,5	120

* Výpočet množství interní kontroly se zakládá na výchozích elučních objemech. Dodatečný mrtvý objem závisí na typu použité zkumavky na vzorek; další informace viz www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Poznámka: Hodnoty uvedené v tabulce jsou pro přípravu směsi interní kontroly – nosičové RNA (CARRIER) pro navazující test, který vyžaduje 0,1 μl interní kontroly/μl eluátu.

Zkumavky obsahující směs interní kontroly, nosičové RNA (CARRIER) a pufru AVE (AVE) jsou umístěny v nosiči zkumavek. Nosič zkumavek obsahující směs(i) interní kontroly, nosičové RNA (CARRIER) a pufru AVE (AVE) musí být umístěn do drážky A zásuvky pro vzorky.

Podle počtu vzorků, které se budou zpracovávat, doporučujeme na ředění interní kontroly použít 2 ml zkumavky (Sarstedt, kat. č. 72.693 nebo 72.694) nebo 14 ml, 17 x 100 mm polystyrénové zkumavky s kulatým dnem (Becton Dickinson, kat. č. 352051), jak je uvedeno v tabulce níže. Objem lze rozdělit do 2 nebo více zkumavek.

Výpočet objemu směsi interní kontroly

Typ zkumavky	Název na dotykové obrazovce QIASymphony	Výpočet objemu směsi interní kontroly – nosičové RNA (CARRIER) – pufru AVE (AVE) na zkumavku
Mikrozkumavka 2 ml s víčkem; mikrozkumavka 2 ml, PP, OLEMOVANÁ, (Sarstedt, kat. č. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikrozkumavka 2 ml s víčkem; mikrozkumavka 2 ml, PP, NEOLEMOVANÁ, (Sarstedt, kat. č. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Zkumavka 14 ml, 17 x 100 mm, polystyrénová s kulatým dnem (Becton Dickinson, kat. č. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Tuto rovnici použijte na výpočet požadovaného objemu směsi interní kontroly (n = počet vzorků; 120 μl = objem směsi interní kontroly, nosičové RNA (CARRIER) a pufru AVE (AVE); 360 μl = mrtvý objem na zkumavku). Například pro 12 vzorků ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Do zkumavky neplňte více než 1,9 ml (tj. maximálně 12 vzorků na zkumavku). Pokud se bude zpracovávat více než 12 vzorků, použijte další zkumavky a dbejte na to, aby byl do každé zkumavky přidán mrtvý objem.

† Tuto rovnici použijte na výpočet požadovaného objemu směsi interní kontroly, nosičové RNA (CARRIER) a pufru AVE (AVE) (n = počet vzorků; 120 μl = objem směsi interní kontroly, nosičové RNA (CARRIER) a pufru AVE (AVE); 600 μl = mrtvý objem na zkumavku). Například pro 96 vzorků ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12\,120 \mu\text{l}$.

Požadované vložky viz www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Použití laboratorního vybavení FIX

Při použití detekce hladiny tekutiny (liquid-level detection, LLD) na přenos vzorků je možno používat primární (odběrové) a sekundární zkumavky. V tom případě však musí být v příslušných zkumavkách určité mrtvé objemy. K minimalizaci mrtvých objemů je nutno použít sekundární zkumavky bez detekce hladiny tekutiny. K dispozici je specifické laboratorní vybavení FIX (např. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), které lze zvolit i na dotykové obrazovce QIA Symphony SP. Tento typ zkumavek/stojanů přináší omezení pro odsávání. Vzorek se odsává v dané výšce ve zkumavce, která je definována objemem přenášeného vzorku. Proto se musí použít objem uvedený v seznamu laboratorního vybavení. Seznamy laboratorního vybavení ke stažení najdete na stránce www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Na stránce www.qiagen.com/goto/dsphandbooks jsou uvedeny zkumavky na vzorky, které lze použít s detekcí hladiny tekutiny nebo bez ní a požadované objemy vzorků. Nepoužívejte větší nebo menší než požadované objemy, jelikož to může vést k chybám při přípravě vzorku.

Zkumavky pro použití s detekcí hladiny tekutiny a zkumavky, které nejsou určeny pro detekci hladiny tekutiny, lze zpracovávat v jedné šarži/cyklu.

Příprava materiálu vzorků

Při manipulaci s chemikáliemi noste vždy laboratorní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace si vyhledejte v příslušných bezpečnostních listech (safety data sheets, SDS), které obdržíte od dodavatele výrobku.

Plazma, sérum a vzorky CSF

Postup purifikace je optimalizován pro použití plazmatu, séra nebo vzorků CSF. K přípravě plazmy lze použít vzorky krve upravené EDTA nebo citrátem jako antikoagulantem. Vzorky mohou být buď čerstvé nebo zmrazené s tím, že nebyly zmrazeny a neroztály více než jedenkrát. Po odběru a centrifugaci mohou být plazma, sérum nebo CSF uchovávány při teplotě 2–8 °C až po dobu 6 hodin. Při delším skladování doporučujeme zmrazení alikvotních podílů na teplotu -20 °C nebo -80 °C. Zmrazené vzorky plazmy nebo séra nesmí roztát více než jednou. Opakované zmrazování a roztátí vede k denaturaci a precipitaci proteinů, což má za následek potenciálně snížené virové titry, a proto dává snížené výtěžky virových nukleových kyselin. Pokud jsou ve vzorcích viditelné kryoprecipitáty, odstředujte je při 6800 x g po dobu 3 minut, supernatanty přeneste do nových zkumavek, aniž by došlo k narušení pelet, a okamžitě zahajte purifikaci. Odstředováním při nízkých silách g nedochází ke snížení virových titrů.

Omezení

Vzorky krve upravené aktivátorem krevních sraženin mohou vést ke sníženým výtěžkům virových nukleových kyselin. Nepoužívejte zkumavky pro odběr krve Greiner Bio-One® VACUETTE® obsahující aktivátor sraženin Z Serum Clot Activator.

Historie revizí

Historie revizí dokumentu	
R2 12/2017	Aktualizace pro software QIASymphony verze 5.0

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příslušné příručce pro sadu QIAGEN® nebo v příručce uživatele. Příručky k sadám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na stránkách www.qiagen.com nebo si je lze vyžádat od technických služeb společnosti QIAGEN nebo místního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (skupina QIAGEN); BD™ (Becton Dickinson and Company); Falcon® (Corning, Inc.); Bio-One®, VACUETTE® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, a to i v případě, že takto nejsou výslovně označeny, nejsou považovány za zákonem nechráněné.
12/2017 HB-0301-S33-002 © 2017 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

Objednávky www.qiagen.com/shop | Technická podpora support.qiagen.com | Webová stránka www.qiagen.com