

Grudzień 2017

Karta protokołu QIAasymphony[®] SP

Protokół Cellfree200_V7_DSP

Niniejszy dokument to *karta protokołu QIAasymphony SP Cellfree200_V7_DSP R2* dla zestawu QIAasymphony DSP
Virus/Pathogen Mini Kit, wersja 1.

Informacje ogólne

Zestaw QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit jest przeznaczony do diagnostyki in vitro.

| | |
|---|---|
| Zestaw | QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit |
| Materiał próbki* | Osocze, surowica i płyn mózgowo-rdzeniowy (CSF) |
| Nazwa protokołu | Cellfree200_V7_DSP |
| Domyślny zestaw ustawień kontrolnych badania | ACS_Cellfree200_V7_DSP_default_IC |
| Możliwość dostosowania | Objętość eluatu: 60 µl, 85 µl, 110 µl |
| Wymagana wersja oprogramowania | Wersja 4.0 lub wyższa |

* Dodatkowe informacje znajdują się w części „Przygotowanie materiału próbki” i „Ograniczenia”, strona 5.

Szuflada „Sample” (Próbka)

| | |
|-------------------------|--|
| Typ próbki | Osocze, surowica i płyn mózgowo-rdzeniowy (CSF) |
| 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 nośnik RNA-bufor AVE; użycie kontroli wewnętrznej jest opcjonalne |

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

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

nd. = nie dotyczy

Szuflada „Waste” (Odpady)

| | |
|--------------------------------------|------------------------------|
| Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4 | Puste opakowania jednostkowe |
| Uchwyt na worek na odpady | Worek na odpady |
| Uchwyt na butlę na odpady płynne | 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†‡ | 30 | 54 | 78 | 102 |
| Jednorazowe końcówki z filtrem, 1500 µl†‡ | 101 | 182 | 271 | 354 |
| Kartridże sample prep§ | 21 | 42 | 63 | 84 |
| Zamknięcia 8-sztyftowe¶ | 3 | 6 | 9 | 2 |

* 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 odczytnikami.

§ Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kartridży sample prep.

¶ Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-sztyftowych.

Uwaga: W zależności od ustawień, na przykład liczby kontroli wewnętrznych używanych na partię, podane liczby końcówek z filtrem mogą się różnić od liczb wyświetlanych na ekranie dotykowym.

Wybrana objętość elucji

| Wybrana objętość elucji (µl)* | Początkowa objętość elucji (µl)† |
|-------------------------------|----------------------------------|
| 60 | 90 |
| 85 | 115 |
| 110 | 140 |

* 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-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE)

| Wybrana objętość elucji (μl) | Objętość roztworu podstawowego nośnika RNA (CARRIER) (μl) | Objętość kontroli wewnętrznej (μl)* | Objętość buforu AVE (AVE) (μl) | Końcowa objętość na próbkę (μl) |
|------------------------------|---|-------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| 60 | 2,5 | 9 | 108,5 | 120 |
| 85 | 2,5 | 11,5 | 106 | 120 |
| 110 | 2,5 | 14 | 103,5 | 120 |

* 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/dsphanbooks.

Uwaga: Wartości widoczne w tabeli służą do przygotowania mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER) dla dalszej analizy, w której wymagane jest 0,1 μl kontroli wewnętrznej na μl eluatu.

Próbki zawierające mieszaninę kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) umieszcza się w nośniku próbek. Nośnik próbek zawierający mieszaninę(-ny) kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) należy umieścić w gnieździe A szuflady „Sample” (Próbka).

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

Obliczanie objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej

| Typ próbki | Nazwa wyświetlona na ekranie dotykowym aparatu QIA Symphony | Obliczenie objętości mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) na próbkę |
|--|---|--|
| Mikroprobówka 2 ml z wieczkiem; mikroprobówka 2 ml, PP, STOŻKOWE DNO W KOŁNIERZU PRZEDŁUŻAJĄCYM (Sarstedt, nr kat. 72.694) | SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$ |
| 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 | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$ |
| Próbka 14 ml, 17 x 100 mm polistyrenowa z okrągłym dnem (Becton Dickinson, nr kat. 352051) | BD#352051 FalconPP 17x100 | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^*$ |

* To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej (n = liczba próbek; $120 \mu\text{l}$ = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = objętość nieużyteczna wymagana na każdą próbkę). Na przykład dla 12 próbek ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Nie napełniać próbki do objętości większej niż 1,9 ml (tj. maksymalnie 12 próbek na próbkę). Jeśli będzie przetwarzanych więcej niż 12 próbek, użyć dodatkowych próbek, upewniając się, że objętość nieużyteczna została dodana do każdej próbki.

† To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) (n = liczba próbek; 120 µl = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE); 600 µl = objętość nieużyteczna wymagana na każdą probówkę). Na przykład dla 96 próbek (n = 96): (96 x 120 µl) + 600 µl = 12 120 µl.

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

Korzystanie ze sprzętu laboratoryjnego FIX

Korzystanie z wykrywania poziomu płynu (liquid-level detection, LLD) podczas przenoszenia próbek, umożliwia stosowanie probówek pierwotnych i dodatkowych. Jednak w takim przypadku w odpowiednich probówkach wymagane są określone objętości martwe. Aby zminimalizować objętości martwe, należy używać probówek dodatkowych bez wykrywania poziomu płynu. Dostępny jest określony sprzęt laboratoryjny FIX (np. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), który można również wybrać na ekranie dotykowym aparatu QIASymphony SP. Ten typ probówki/statywu nakłada ograniczenia na aspirację. Próbka jest aspirowana na określonej wysokości probówki, która jest zdefiniowana przez objętość przenoszonej próbki. Z tego względu kluczowe jest upewnienie się, że stosowana jest objętość wymieniona na liście sprzętów laboratoryjnych. Listy sprzętów laboratoryjnych można pobrać ze strony www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Probówki, których można użyć z wykrywaniem poziomu płynu lub bez takiego wykrywania, oraz wymagane objętości próbek są wymienione na stronie www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Nie stosować objętości większych lub mniejszych od wymaganej objętości, gdyż może to prowadzić do błędów podczas przygotowania próbki.

W jednej partii/cykle można przetwarzać probówki do użytku z wykrywaniem poziomu płynu oraz bez takiego wykrywania.

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 sheets, SDS) uzyskanymi od producentów poszczególnych produktów.

Próbki osocza, surowicy i płynu mózgowo-rdzeniowego (CSF)

Procedura oczyszczania została zoptymalizowana do użytku z próbkami osocza, surowicy lub płynu mózgowo-rdzeniowego. Do przygotowania osocza można użyć próbek krwi z dodatkiem

EDTA lub cytrynianu jako antykoagulantu. Próbkę mogą być świeże lub zamrożone, pod warunkiem, że nie były zamrażane i rozmrażane więcej niż raz. Po pobraniu i odwirowaniu osocze, surowicę lub płyn mózgowo-rdzeniowy można przechowywać w temperaturze 2–8°C do 6 godzin. W celu długoterminowego przechowywania zalecamy zamrożenie porcji w temperaturze –20°C lub –80°C. Zamrożonych próbek osocza lub surowicy nie wolno rozmrażać więcej niż raz. Wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie prowadzi do denaturacji i wytrącania białek, co powoduje zmniejszenie miana wirusów i z tego powodu zmniejszone uzyskiwanie kwasów nukleinowych. Jeśli w próbkach widoczne są krioprecypitaty, odwirować próbki przy 6800 x g przez 3 minuty, przenieść supernatanty do świeżych probówek, nienaruszając osadów, a następnie niezwłocznie rozpocząć procedurę oczyszczania. Wirowanie przy niskiej sile odśrodkowej g nie zmniejsza miana wirusów.

Ograniczenia

Próbki krwi z dodatkiem aktywatora wykrzepiania surowicy mogą zmniejszać uzyskiwanie kwasów nukleinowych. Nie używać probówek do pobierania krwi Greiner Bio-One® VACUETTE® z aktywatorem wykrzepiania surowicy.

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); Falcon® (Corning, Inc.); Bio-One®, VACUETTE® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt® (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-0301-S33-002 © 2017 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.

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