
Dezember 2017

QIAsymphony[®] SP

Protokollblatt

Protokoll: Cellfree1000_V7_DSP

Das vorliegende Dokument ist das *QIAsymphony SP Protokollblatt*, R2, zum Cellfree1000_V7_DSP Protokoll für den QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, Version 1.

Allgemeine Informationen

Der QIASymphony DSP Virus/Pathogen-Kit ist für den in-vitro-diagnostischen Gebrauch vorgesehen.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Probenmaterial *	Plasma, Serum oder CSF (Liquor)
Protokollname	Cellfree1000_V7_DSP
Standard-Assay-Kontroll-Set	ACS_Cellfree1000_V7_DSP_default_IC
Editierbare Parameter	Eluatvolumen: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Erforderliche Software	Version 4.0 oder höher

* Weitere Informationen finden Sie im Abschnitt „Vorbereitung des Probenmaterials“ und „Einschränkungen des Verfahrens“ auf Seite 5.

„Sample“ (Proben)-Schublade

Probentyp	Plasma, Serum oder CSF (Liquor)
Probenvolumen	Hängt vom verwendeten Probentyp ab; weitere Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primärprobenröhrchen	Weitere Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Sekundärprobenröhrchen	Weitere Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Einsätze	Hängt vom verwendeten Probentyp ab; weitere Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Sonstiges	Carrier-RNA-Lösung (in Puffer AVE) erforderlich; Verwendung einer internen Kontrolle optional

„Reagents and Consumables“ (Reagenzien und Verbrauchsartikel)-Schublade

Position A1 und/oder A2	Reagenzienkartusche (RC)
Position B1	n. z.
Tip-Rack-Halter 1–17	Einmal-Filterpipettenspitzen, 200 µl
Tip-Rack-Halter 1–17	Einmal-Filterpipettenspitzen, 1500 µl
Container-Halter 1–4	Container mit Probenverarbeitungs-Kartuschen
Container-Halter 1–4	Container mit 8-Magnetstab-Schutzhülsen

n. z. = nicht zutreffend

„Waste“ (Abfall)-Schublade

Container-Halter 1–4	Leere Verbrauchsartikel-Container
Abfallbeutel-Halter	Abfallbeutel
Flüssigabfallflaschen-Halter	Flüssigabfallflasche

„Eluate“ (Eluat)-Schublade

Elutions-Rack (wir empfehlen, Stellplatz 1 – die Kühlposition – zu verwenden)	Weitere Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
--------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Benötigte Kunststoff-Verbrauchsartikel

	Eine Proben-Charge, 24 Proben*	Zwei Proben-Chargen, 48 Proben*	Drei Proben-Chargen, 72 Proben*	Vier Proben-Chargen, 96 Proben *
Einmal-Filterpipettenspitzen, 200 µl ^{††}	28	52	76	100
Einmal-Filterpipettenspitzen, 1500 µl ^{††}	113	206	309	402
Probenverarbeitungs-Kartuschen [§]	21	42	63	84
8-Magnetstab-Schutzhülsen [†]	3	6	9	12

* Bei Verwendung von mehr als einer internen Kontrolle pro Charge und bei Durchführung von mehr als einem Inventar-Scan werden zusätzliche Einmal-Filterpipettenspitzen benötigt. Bei Verarbeitung von weniger als 24 Proben pro Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterpipettenspitzen entsprechend.

[†] Ein Tip-Rack enthält 32 Filter-Pipettenspitzen.

^{††} Bei der Anzahl der benötigten Filter-Pipettenspitzen sind die Spitzen für einen Inventar-Scan pro Reagenzienkartusche berücksichtigt.

[§] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenverarbeitungs-Kartuschen.

[†] Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Magnetstab-Schutzhülsen.

Hinweis: Die angegebene Anzahl Filter-Pipettenspitzen kann von der im Touchscreen-Display angezeigten Anzahl abweichen; dies hängt von den Einstellungen, zum Beispiel der Anzahl der verwendeten internen Kontrollen pro Charge, ab.

Gewähltes Elutionsvolumen

Gewähltes Elutionsvolumen (µl)*	Ausgangsvolumen der Elutionslösung (µl)[†]
60	90
85	115
110	140

* Das zur Auswahl im Touchscreen-Display angezeigte Elutionsvolumen. Dies entspricht dem verfügbaren Eluat-Mindestvolumen im letzten Elutionsgefäß.

[†] Das benötigte Ausgangsvolumen an Elutionslösung, um sicherzustellen, dass das tatsächliche Eluatvolumen dem gewählten Volumen entspricht.

Ansetzen des Interne-Kontrolle-Carrier-RNA-Gemischs in Puffer AVE

Gewähltes Elutionsvolumen (µl)	Volumen Stammlösung Carrier-RNA (CARRIER) (µl)	Volumen der internen Kontrolle (IC) (µl)*	Volumen Puffer AVE (µl)	Endvolumen pro Probe (µl)
60	5	9	106	120
85	5	11.5	103.5	120
110	5	14	101	120

* Die Berechnung der Menge an interner Kontrolle basiert jeweils auf dem Ausgangsvolumen an Elutionslösung. Zusätzliches Verlustvolumen hängt von der Art des verwendeten Probenröhrchens ab; weitere Informationen siehe www.qiagen.com/goto/dsphanbooks.

Hinweis: Die in der Tabelle angegebenen Werte beziehen sich auf den Ansatz eines Gemischs aus interner Kontrolle und Carrier-RNA-Lösung für einen nachfolgenden Assay, in dem 0,1 µl interne Kontrolle pro µl Eluat mitgeführt werden muss.

Röhrchen mit IC-Carrier-RNA-Gemisch (in Puffer AVE) werden in ein Proben-Rack gestellt. Das Proben-Rack mit dem oder den IC-Carrier-RNA-Gemisch(en) wird in den Stellplatz A der Proben-Schublade ("Sample") hineingeschoben.

Je nach Anzahl der zu verarbeitenden Proben empfehlen wir, 2-ml-Röhrchen (Fa. Sarstedt, Kat.-Nr. 72.693 oder 72.694) oder 14-ml-Rundboden-Röhrchen aus Polystyrol (17 x 100 mm; Fa. Becton Dickinson, Kat.-Nr. 352051) zum Verdünnen der internen Kontrolle zu verwenden, so wie in der Tabelle auf Seite 5 beschrieben. Das Volumen kann auf 2 oder mehr Röhrchen aufgeteilt werden.

Berechnung des Volumens Interne-Kontrolle-Gemisch

Röhrchen-Typ	Bezeichnung auf QIASymphony Touchscreen	Berechnung des Volumens Interne-Kontrolle-Carrier-RNA-Gemisch (in Puffer AVE) pro Röhrchen
2-ml-Mikro-Reaktionsgefäß mit Deckel; 2-ml-Mikro-Reaktions-gefäß aus PP, mit Stehrand (Fa. Sarstedt, Kat.-Nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
2-ml-Mikro-Reaktionsgefäß mit Deckel; 2-ml-Mikro-Reaktions-gefäß aus PP, ohne Stehrand (Fa. Sarstedt, Kat.-Nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
14-ml-Rundboden-Röhrchen, 17 x 100 mm, aus Polystyrol (Fa. Becton Dickinson, Kat.-Nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Berechnen Sie mithilfe dieser Gleichung das erforderliche Volumen des Gemischs mit der internen Kontrolle (n = Anzahl der Proben; $120 \mu\text{l}$ = Volumen des IC-Carrier-RNA-Gemischs in Puffer AVE; $360 \mu\text{l}$ = pro Röhrchen erforderliches Leervolumen). Beispiel für 12 Proben ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Befüllen Sie das Röhrchen mit maximal 1,9 ml (d. h. ein Röhrchen reicht für maximal 12 Proben). Falls mehr als 12 Proben verarbeitet werden sollen, bereiten Sie weitere Röhrchen vor. Stellen Sie dabei sicher, dass das Leervolumen pro Röhrchen berücksichtigt wird.

† Berechnen Sie mithilfe dieser Gleichung das erforderliche Volumen des IC-Carrier-RNA-Gemischs in Puffer AVE (n = Anzahl der Proben; $120 \mu\text{l}$ = Volumen des IC-Carrier-RNA-Gemischs in Puffer AVE; $600 \mu\text{l}$ = pro Röhrchen erforderliches Leervolumen). Beispiel für 96 Proben ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

Informationen zu den erforderlichen Einsätzen finden Sie unter www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Vorbereitung des Probenmaterials

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Schutzhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheits-Datenblättern (Safety Data Sheets, SDSs) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Plasma-, Serum- und CSF-Proben

Das Reinigungsprotokoll ist für die Verwendung von Plasma-, Serum- oder CSF-Proben (CSF = Cerebrospinalflüssigkeit, Liquor) als Ausgangsmaterial optimiert. Für die Gewinnung von Plasma eignen sich Blutproben, die mit EDTA oder Citrat als Antikoagulans behandelt wurden. Es können frisch gewonnene oder eingefrorene Proben verwendet werden, vorausgesetzt sie wurden nicht mehr als einmal eingefroren und wiederaufgetaut. Nach (Blut-)Entnahme und Zentrifugation können Plasma-, Serum- und CSF-Proben bis zu sechs Stunden bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Für eine längerfristige Lagerung bei –20 °C oder –80 °C empfehlen wir, die Proben zu aliquotieren. Tiefgefrorene Plasma- oder Serumproben dürfen nur einmal aufgetaut werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen führt zur Denaturierung und Präzipitation von Proteinen, was möglicherweise zu verminderten Virustitern und reduzierter Ausbeute an viralen Nukleinsäuren führt. Wenn sich sichtbare Kryopräzipitate in den Proben befinden, zentrifugieren Sie sie für 3 min bei 6800 x g und überführen Sie den Überstand jeweils in ein neues Reaktionsgefäß, ohne das Pellet aufzuwirbeln. Beginnen Sie dann unmittelbar danach mit der Nukleinsäure-Reinigung. Eine Zentrifugation bei niedrigen g-Zahlen führt nicht zu verminderten Virustitern.

Einschränkungen des Verfahrens

Blutproben, die mit Serum-Gerinnungsaktivator behandelt wurden, könnten reduzierte Ausbeuten an viralen Nukleinsäuren ergeben. Verwenden Sie daher keine Bio-One® VACUETTE® Blutentnahmeröhrchen von Greiner, die den Serum-Gerinnungsaktivator Z enthalten.

Bearbeitungshistorie

Bearbeitungshistorie des Dokuments	
R2 12/2017	Aktualisierung für die QIASymphony Software, Version 5.0

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische rechtliche Hinweise finden Sie im Handbuch des jeweiligen QIAGEN®-Kits. Handbücher und Gebrauchsanweisungen zu QIAGEN-Kits sind unter **www.qiagen.com** abrufbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder bei Ihrem örtlichen Distributor angefordert werden.

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN-Gruppe). Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die in diesem Dokument verwendeten Markennamen oder Warenzeichen geschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.
12/2017 HB-0301-S35-002 © 2017 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Bestellungen www.qiagen.com/shop | Technische Beratung support.qiagen.com | Internetseite www.qiagen.com