

December 2017

QIASymphony[®] SP -protokollblad

VirusBlood200_V5_DSP-protokoll

Detta dokument är VirusBlood200_V5_DSP QIASymphony SP:s protokollblad R2, för QIASymphony DSP DNA Mini Kit, version 1.

Allmän information

QIAasymphony DSP DNA-kit är avsett för in vitro-diagnostik.

Detta protokoll är avsett för rening av viralt DNA från färskt eller fryst humant helblod med användning av QIAasymphony® SP och QIAasymphony DSP DNA Mini Kit. Viralt DNA från frisatta virus liksom från cellassocierade virus renas samtidigt med genomiskt DNA från blodceller.

Kit	QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (kat. nr 937236)
Provmaterial	Humant helblod (antikoagulerat med EDTA eller citrat)
Protokollnamn	VirusBlood200_V5_DSP
Förvald analyskontrolluppsättning	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Redigerbar	Elueringsvolym: 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller senare

Lådan "Sample" (prov)

Provtyp	Humant helblod (antikoagulerat med EDTA eller citrat)
Provolym	Beror på vilken typ av provrör som används. Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.
Primära provrör	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.
Sekundära provrör	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.
Insatser	Beror på vilken typ av provrör som används. Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.
Övrigt	Blandning av intern kontroll och ATE-buffert krävs, användning av intern kontroll är frivillig

Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

Position A1 och/eller A2	Reagenskasset
Position B1	Ej relevant
Spetsrackhållare 1–17	Engångsfilterspetsar, 200 µl eller 1 500 µl
Hållare för enhetslådor 1–4	Enhetslådor som innehåller provprepareringskassetter eller 8-stavsskydd

n/a = ej relevant.

Lådan "Waste" (avfall)

Hållare för enhetslådor 1–4	Tomma enhetsaskar
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Flaskhållare för flytande avfall	Tom flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (eluat)

Elueringsställ (vi rekommenderar att uttag 1, kylpositionen, används)	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.
---	--

Erforderliga plastartiklar

	En batch, 24 prover*	Två batcher, 48 prover*	Tre batcher, 72 prover*	Fyra batcher, 96 prover*
Engångs-filterspetsar, 200 µl [†]	26	50	74	98
Engångs-filterspetsar, 1500 µl [†]	98	188	278	368
Provprepareringskassetter [§]	21	42	63	84
8-stavsskydd [¶]	3	6	9	12

* Om fler än en intern kontroll används per batch och mer än en inventarieskanning utförs krävs det fler engångsfilterspetsar. Om färre än 24 prover per batch används, krävs det färre engångsfilterspetsar per körning.

[†] Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

[‡] Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventerande skanning per reagenskasset.

[§] Det finns 28 provprepareringskassetter/enhetslåda.

[¶] Det finns tolv 8-stavsskydd/enhetslåda.

Obs! Beroende på inställningarna kan antalet givna filterspetsar skilja sig från de siffror som visas på pekskärmen. Vi rekommenderar att det maximala antalet spetsar laddas.

Vald elueringsvolym

Vald elueringsvolym (µl)*	Initial elueringsvolym (µl) [†]
60	90
85	115
110	140
165	195

* Den elueringsvolym som valts på pekskärmen. Detta är den minsta eluatvolym som är tillgänglig i det slutliga elueringsröret.

[†] Den initiala volym elueringslösning som krävs för att säkerställa att den faktiska eluatvolymen är densamma som den valda volymen.

Beredning av blandning av intern kontroll och ATE-buffert

När protokollet VirusBlood200_V5_DSP används i kombination med amplifieringssystem som använder en intern kontroll kan du behöva introducera dessa interna kontroller i reningsproceduren för att övervaka effektiviteten av provberedning och nedströmsanalys.

Mängden intern kontroll som tillsätts beror på analysystemet och den valda elueringsvolymen inom protokollet VirusBlood200_V5_DSP. Beräkning och validering måste utföras av användaren. Se tillverkarens anvisningar för nedströmsanalysen för att bestämma den optimala koncentrationen av intern kontroll.

Interna kontroller måste tillsättas till blandningen av intern kontroll och ATE-buffert (ATE) i en total volym på 60 µl. En blandning av interna kontroller kan användas för att analysera olika parametrar från ett enda eluat. Användaren måste validera att olika interna kontroller är kompatibla. Vi rekommenderar att du preparerar färska blandningar för varje körning precis innan användning. Om ingen intern kontroll används, behövs fortfarande ATE-buffert.

Vald elueringsvolym (µl)	Initial elueringsvolym (µl)	Volym för intern kontroll (µl)*	Volym för ATE-buffert (ATE) (µl)	Slutlig volym per prov (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

* Beräkningen av mängden intern kontroll är baserad på de initiala elueringsvolymerna. Tillkommande tom volym beror på vilken typ av provrör som används, se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.

Obs! De värden som visas i tabellen är för beredning av blandning av intern kontroll och ATE-buffert för en nedströmsanalys som kräver 0,1 µl intern kontroll/µl eluat.

Rör som innehåller blandningar av intern kontroll och ATE-buffert placeras i en rörbärare. Den rörbärare som innehåller blandning(ar) av intern kontroll och ATE-buffert måste placeras i provlådans skåra A.

Beroende på hur många prover som ska analyseras rekommenderar vi att 2 ml provrör (Sarstedt®, kat.nr 72.693 eller 72.694) eller 14 ml 17 x 100 mm provrör av polystyren med rund botten (Becton Dickinson (BD™), kat.nr 352051) används för spädning av den interna kontrollen enligt nedanstående tabell. Det är möjligt att dela upp volymen i 2 eller fler provrör.

Beräkna volymen på den interna kontrollblandningen

Typ av rör [†]	Namn på QIASymphonys pekskärm	Beräkning av volym intern kontroll-blandning per rör
2 ml med lock, mikrorör 2 ml, PP, MED KRAGE (Sarstedt, kat.nr 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikrorör 2 ml med lock, mikrorör 2 ml, PP, UTAN KRAGE (Sarstedt, kat.nr 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Provrör av polystyren, 14 ml, 17 x 100 mm, med rund botten (Becton Dickinson, kat.nr 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\ddagger$

* Använd denna ekvation för att beräkna erforderlig volym av intern kontrollblandning (n = antalet prover, $60 \mu\text{l}$ = volym av blandning av intern kontroll och ATE-buffert, $360 \mu\text{l}$ = tom volym som krävs per rör). Exempelvis, för 12 prover ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1\ 080 \mu\text{l}$. Fyll inte provröret med mer än 1,92 ml (dvs. högst 26 prover per rör). Om fler än 26 prover ska köras ska du använda fler rör och se till att den tomma volymen läggs till för varje rör.

† Använd denna ekvation för att beräkna erforderlig volym av blandningen av intern kontroll och ATE-buffert (n = antal prover; $60 \mu\text{l}$ = volym av blandning av intern kontroll och ATE-buffert; $600 \mu\text{l}$ = tom volym som krävs per rör). Exempelvis, för 96 prover ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6\ 360 \mu\text{l}$.

‡ Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för erforderliga insatser.

Förberedelse av provmaterial

Använd alltid lämplig laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Om du vill ha mer information hänvisas till tillämpliga säkerhetsdatablad (SDS) som kan erhållas från produktleverantören.

Humant helblod

För isolering av viralt DNA rekommenderar vi användning av helblodsprover som behandlats med EDTA eller citrat. Prover ska bearbetas inom 24 timmar efter provtagning. Förvara eller transportera prover vid 2–25 °C. För längre tids förvaring rekommenderar vi infrysning av aliquoter vid –20 °C eller –80 °C.

När du använder färsk blodprover i primärrör blandar du proverna noga (t.ex. genom att vända rören flera gånger) innan du laddar dem på QIASymphony SP. För att säkerställa en pålitlig provöverföring bör skumbildning i provrören undvikas. Försök att undvika blodklumpar i proven och överför vid behov provet utan klumpar till ett nytt rör.

Revisionshistorik

Dokumentrevisioner	
R2 12/2017	Uppdatering för QIASymphony Software version 5.0

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler: se respektive QIAGEN®-satshandbok eller användarhandbok. QIAGEN-satshandböcker och användarhandböcker finns att tillgå på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk support eller från lokal återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN-gruppen), BD™, (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrerade namn, varumärken osv. som används i detta dokument, även när de inte uttryckligen har markerats som sådana, får inte betraktas som oskyddade i lag.
12/2017 HB-0977-S07-002 © 2017 QIAGEN, med ensamrätt.

Beställning www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Webbplats www.qiagen.com