

QIASymphony SP-protokolark

VirusBlood200_V5_DSP-protokol

Generel information

Til in vitro-diagnostisk brug.

Denne protokol er til oprensning af viral DNA fra frisk, humant helblod ved hjælp af QIASymphony® SP og QIASymphony DSP DNA Mini-kittet. Viral DNA fra frigivne vira, samt celleassocierede vira oprenses samtidig med genomisk DNA fra blodcellerne.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (kat. nr. 937236)
Prøvemateriale	Humant helblod (EDTA eller citrat-antikoaguleret)
Protokolnavn	VirusBlood200_V5_DSP
Standard analysekontROLSÆT	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Redigerbar	Elueringsvolumen: 60 µl, 85 µl, 110 µl eller 165 µl
Påkrævet softwareversion	Version 4.0

September 2012



Sample & Assay Technologies

Skuffen "Sample" (Prøve)

Prøvetype	Humant helblod (EDTA eller citrat-antikoaguleret)
Prøvevolumen	Afhænger af den anvendte prøveglastype; for at få flere oplysninger se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primære prøveglas	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger.
Sekundære prøveglas	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger.
Indsatser	Afhænger af den anvendte prøveglastype; for at få flere oplysninger se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Andet	Intern kontrol-buffer-ATE-blanding er påkrævet; brug af intern kontrol er valgfri

Skuffen "Reagents and Cosumables" (Reagenser og forbrugsartikler)

Position A1 og/eller A2	Reagenspatron
Position B1	i/r
Spidsrackholder 1-17	Engangsfilterspidser, 200 µl eller 1500 µl
Enhedsboksholder 1-4	Enhedsbokse med prøveklargøringsbeholdere eller 8-stavs dæksler

i/r = ikke relevant.

Skuffen "Waste" (Affald)

Enhedsboksholder 1-4	Tomme enhedsbokse
Affaldsposeholder	Affaldspose
Holder til flaske til flydende affald	Tom flaske til flydende affald

Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elueringsrack (vi anbefaler at anvende åbning 1, afkølingsposition)

Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger.

Påkrævede plastikprodukter

	En batch, 24 prøver*	To batches, 48 prøver*	Tre batches, 72 prøver*	Fire batches, 96 prøver*
Engangs filterspidser, 200 µl ^{††}	26	50	74	98
Engangs filterspidser, 1500 µl ^{††}	98	188	278	368
Prøveklargøringsbeholdere [§]	21	42	63	84
8-stavs dæksler [†]	3	6	9	12

* Brug af mere end et rør med intern kontrol pr. batch og gennemførelse af mere end en indholdsscanning kræver ekstra engangsfilterspidser. Anvendelse af mindre end 24 prøver pr. batch reducerer antallet af engangsfilterspidser påkrævet pr. kørsel.

[†] Der er 32 filterspidser/spidsrack.

^{††} Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. reagensbeholder.

[§] Der er 28 prøveklargøringsbeholdere/enhedsboks.

[†] Der er tolv 8-stavs dæksler/enhedsboks.

Bemærk: Antallet af angivne filterspidser kan afvige fra det antal, der vises på berøringsskærmen, afhængigt af indstillinger. Vi anbefaler at isætte det størst mulige antal spidser.

Valgt elueringsvolumen

Valgt elueringsvolumen (μl)*	Initiel elueringsvolumen (μl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* Elueringsvolumenen vælges på berøringskærmen. Dette er det minimalt tilgængelige eluatvolumen i det sidste elueringsrør.

† Det initiale volumen af elueringsopløsning, der skal til for at sikre, at den aktuelle elueringsvolumen stemmer overens med den forvalgte volumen.

Klargøring af intern kontrolbuffer-ATE-blanding

Brug af VirusBlood200_V5_DSP-protokollen sammen med amplificeringssystemer, hvor der anvendes en intern kontrol, kan kræve at disse interne kontroller tages i brug ved oprensingsproceduren for at overvåge effektiviteten af prøveklargøringen og downstream-analyser.

Mængden af intern kontrol, som tilsættes, afhænger af analysesystemet og elueringsvolumenen, som vælges i VirusBlood200_V5_DSP-protokollen. Beregning og validering skal udføres af brugeren. Se producentens anvisninger til downstream-analysen for at fastlægge den optimale koncentration af intern kontrol.

De interne kontroller skal tilsættes til den interne kontrolbuffer-ATE-blanding med en total volumen på 60 μl . En blanding af interne kontroller kan anvendes til at analysere de forskellige parametre fra et enkelt eluat. Forlideligheden mellem de forskellige interne kontroller skal valideres af brugeren. Vi anbefaler at klargøre friske blandinger til hver kørsel umiddelbart før brug. Brug af buffer-ATE er påkrævet, selvom der ikke anvendes nogen intern kontrol.

Valgt elueringsvolumen (μ l)	Initiel elueringsvolumen (μ l)	Intern kontrol-volumen (μ l)*	Buffer-ATE (ATE)-volumen (μ l)	Endelig volumen pr. prøve (μ l)
60	90	9	51	60
85	115	11,5	48,5	60
110	140	14	46	60
165	195	19,5	40,5	60

* Beregningen af mængden af intern kontrol er baseret på de initiale elueringsvolumener. Dette afhænger af den anvendte prøveglastype; for at få flere oplysninger se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Bemærk: Værdierne, der vises i tabellen, er til klargøring af den interne kontrol-buffer-ATE-blanding til downstream-analysen, som kræver 0,1 μ l intern kontrol/ μ l eluat.

Prøveglassene indeholder interne kontrol-buffer-ATE-blandinger, som anbringes i en rørholder. Rørholderen med interne kontrol-buffer-ATE-blandinger skal placeres i plads A i skuffen "Sample" (prøve).

Afhængigt af antallet af prøver, der skal behandles, anbefaler vi at anvende 2 ml-rør (Sarstedt®, katalognr. 72.693 eller 72.694) eller 14 ml 17 x 100 mm rør af polystyren med rund bund (Becton Dickinson (BD™), katalognr. 352051) til fortynding af den interne kontrol, som beskrevet i tabellen nedenfor. Det er muligt at dele volumen i 2 eller flere rør.

Beregning af volumen af den interne kontrolblanding

Rørtype [‡]	Navn på QIASymphony-berøringskærm	Beregning af intern kontrol-blandingsvolumen pr. prøverør.
2 ml med hætte; mikrorør 2 ml, PP, MED KRAVE (Sarstedt, katalognr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikrorør 2 ml med hætte; mikrorør 2 ml, PP, UDEN KRAVE (Sarstedt, katalognr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Rør 14 ml, 17 x 100 mm af polystyren med rund bund (Becton Dickinson, katalognr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Brug denne ligning til at beregne den påkrævede mængde intern kontrolblanding (n = antal prøver; $60 \mu\text{l}$ = mængden af intern kontrol-buffer-ATE-blanding; $360 \mu\text{l}$ = porevolumen påkrævet pr. rør). For eksempel 12 prøver ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Fyld ikke røret med mere end 1,92 ml (dvs. maksimalt 26 prøver pr. rør). Hvis der skal behandles mere end 26 prøver, skal der anvendes flere rør, og det skal sikres, at porevolumen tilsættes pr. rør.

† Brug denne ligning til at beregne den påkrævede mængde intern kontrolblanding (n = antal prøver; $60 \mu\text{l}$ = mængden af intern kontrol-buffer-ATE-blanding; $600 \mu\text{l}$ = porevolumen påkrævet pr. rør). For eksempel 96 prøver ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

‡ Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for påkrævede oplysninger.

Klargøring af prøvemateriale

Når der arbejdes med kemikalier, skal der altid bæres egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller. Der findes mere information i de tilhørende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets, SDSs), som kan fås hos den pågældende leverandør.

Humant helblod

Ved isolation af virus-DNA anbefaler vi, at man anvender helblodsprøver, der er behandlet med EDTA eller citrat. Prøverne skal behandles inden for 24 timer efter udtagning. Opbevaring eller transport af prøver ved 2–25 °C. Ved længere opbevaring anbefaler vi, at man fryser alikvotter ved –20 °C eller –80 °C.

Brug helblodsprøver i primære prøverør, bland blodprøverne grundigt (f.e.sk ved at vende rørene på hovedet flere gange), inden de indsættes i QIASymphony SP. For at sikre pålidelig prøveoverførsel skal man undgå, at der opstår skum i prøverørene. Undgå så vidt muligt blodkoageler og, hvis det er nødvendigt, overfør prøven uden koageler til et nyt prøverør.

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle QIAGEN kit-håndbog eller brugervejledning. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENs tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Varemærker: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™, (Becton, Dickinson og Company); Sarstedt® (Sarstedt AG og Co.). Registrerede navne, varemærker osv. anvendt i dette dokument, selv når de ikke specifikt er markeret som sådan, skal ikke betragtes som værende juridisk ubeskyttede.

© 2012 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-51345678

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800 787980

Japan ■ 03-5547-0811

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies