

December 2017

Protocolblad QIASymphony[®] SP

Protocol VirusBlood200_V5_DSP

Dit document is het *QIASymphony SP-protocolblad, R2*, voor VirusBlood200_V5_DSP voor QIASymphony DSP DNA Mini Kit, versie 1.

Algemene informatie

De QIASymphony DSP DNA-kit is bedoeld voor gebruik in de in-vitrodiagnostiek.

Dit protocol is bedoeld voor de zuivering van viraal DNA uit vers humaan volbloed met behulp van de QIASymphony SP en de QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Viraal DNA van vrijgekomen virussen en van virussen die zijn verbonden met cellen wordt gezuiverd van genomisch DNA uit bloedcellen.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (catalogusnr. 937236)
Monstermateriaal	Humaan volbloed (ontsteld met EDTA of citraat)
Naam protocol	VirusBlood200_V5_DSP
Standaard assaycontroleaset	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Bewerkbaar	Elutievolume: 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
Vereiste softwareversie	Versie 4.0 of hoger

De lade 'Sample' (Monsterlade)

Monstertype	Humaan volbloed (ontsteld met EDTA of citraat)
Monstervolume	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis, raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie.
Primaire monsterbuizen	Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie.
Secondaire monsterbuizen	Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie.
Inzetten	Afhankelijk van het gebruikte type monsterbuis, raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie.
Overige	ATE-buffermengsel voor interne controle vereist; gebruik van interne controle is optioneel

De lade 'Reagents and Consumables' (Reagentia- en verbruiksartikelenlade)

Positie A1 en/of A2	Reagenscartridge
Positie B1	n.v.t.
Tiprekhouder 1-17	Disposable filtertips, 200 µl of 1500 µl
Verpakkingsdooshouder 1-4	Verpakkingsdozen met monsterbereidingscartridges of 8 staafhulzen

n.v.t. = niet van toepassing.

De lade 'Waste' (Afvallade)

Verpakkingsdooshouder 1-4	Lege verpakkingsdozen
Afvalzakhouder	Afvalzak
Houder afvalvloeistoffenfles	Lege afvalvloeistoffenfles

De lade 'Eluate' (Eluaatlade)

Elutierek (het gebruik van slot 1, de koelpositie, wordt aangeraden)	Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie.
--	--

Benodigde plastic artikelen

	Een batch, 24 monsters*	Twee batches, 48 monsters*	Drie batches, 72 monsters*	Vier batches, 96 monsters*
Wegwerpbare filtertips, 200 µl†	26	50	74	98
Wegwerpbare filtertips, 1500 µl†	98	188	278	368
Monsterbereidingscartridges§	21	42	63	84
8-staafhulzen¶	3	6	9	12

* Het gebruik van meer dan een interne controle per batch en het uitvoeren van meer dan een voorraadscaan zijn aanvullende wegwerpbare filtertips nodig. Bij gebruik van minder dan 24 monsters per batch zijn minder wegwerpbare filtertips per run nodig.

† Er zitten 32 filtertips in een filtertiprek.

‡ Het aantal benodigde filtertips is inclusief tips voor 1 voorraadscaan per reagenscartridge.

§ Er zitten 28 monsterbereidingscartridges in een verpakkingsdoos.

¶ Er zitten twaalf 8-staafhulzen in een verpakkingsdoos.

Opmerking: De gegeven aantallen filtertips kunnen afwijken van de aantallen die op het aanraakscherm worden weergegeven. Dit is afhankelijk van de instellingen. Wij raden aan om het maximaal mogelijke aantal tips te plaatsen.

Geselecteerd elutievolume

Geselecteerd elutievolume (µl)*	Aanvankelijk elutievolume (µl)*
60	90
85	115
110	140
165	195

* Het elutievolume dat op het touchscreen is geselecteerd. Dit is het minimaal toegankelijke eluatievolume in de laatste elutiebus.

[†] Het aanvankelijke volume van de elutieoplossing is nodig om er zeker van te zijn dat het daadwerkelijke eluatuavolume gelijk is aan het geselecteerde volume.

Vorbereiding van ATE-buffermengsel voor interne controle

Voor gebruik van het VirusBlood200_V5_DSP-protocol in combinatie met versterkingssystemen die gebruik maken van een interne controle kan het toepassen van deze interne controles in de zuiveringsprocedure nodig zijn om de effectiviteit van monstervorbereiding en vervolgassay te bewaken.

De hoeveelheid interne controle die wordt toegevoegd is afhankelijk van het assaysysteem en het elutievolume dat wordt gekozen binnen het VirusBlood200_V5_DSP-protocol. De gebruiker moet de berekening en de validatie uitvoeren. Raadpleeg de instructies van de fabrikant voor de vervolgassay om de optimale concentratie voor interne controle te bepalen.

Interne controles moeten samen met het ATE-buffermengsel voor interne controle worden toegevoegd in een totaal volume van 60 µl. Een mengsel van interne controles kan worden gebruikt voor het analyseren van verschillende parameters van een enkel eluaat. De compatibiliteit van verschillende interne controles moet door de gebruiker worden gevalideerd. Wij raden aan om voor elke run vlak voor gebruik nieuwe mengsels te bereiden. Het gebruik van ATE-buffer is nog steeds vereist, ook als er geen interne controle wordt gebruikt.

Geselecteerd elutievolume (µl)	Aanvankelijk elutievolume (µl)	Volume interne controle (µl)*	Volume ATE-buffer (ATE) (µl)	Uiteindelijk volume per monster (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

* De berekening van de hoeveelheid interne controle is gebaseerd op de aanvankelijke elutievolumes. Extra dood volume is afhankelijk van het gebruikte type monsterbuisje. Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphandbooks voor meer informatie.

Opmerking: De waarden die in de tabel worden weergegeven, zijn voor het voorbereiden van ATE-buffermengsel voor interne controle voor een vervolgassay waarvoor 0,1 µl interne controle/µl eluaat benodigd is.

Buizen met ATE-buffermengsel voor interne controle worden in een buizendrager geplaatst. De buizendrager met het ATE-mengsel als interne controlebuffer moet in slot A van de lade "Sample" (Monsterlade) worden geplaatst.

Afhankelijk van het aantal monsters dat moet worden verwerkt, wordt het aangeraden om buizen van 2 ml (Sarstedt®, cat.nrs. 72.693 en 72.694) of 14 ml 17 x 100 mm polystyrene rondbodembuizen (Becton Dickinson (BD™), cat.nr. 352051) te gebruiken voor het verdunnen van

de interne controle, zoals wordt beschreven in de onderstaande tabel. Het is mogelijk om het volume over twee of meer buizen te verdelen.

Het volume van het interne controlemengsel berekenen

Buistype [†]	Naam op QIASymphony-touchscreen	Het berekenen van het volume van het interne controlemengsel per buis
2 ml met dop; microbuis 2 ml, PP, MET STARAND, (Sarstedt, cat.nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microbuis van 2 ml met dop; microbuis 2 ml, PP, ZONDER STARAND, (Sarstedt, cat.nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Buis 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene rondbodem (Becton Dickinson, cat.nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Gebruik deze vergelijking voor het berekenen van het vereiste volume van het interne controlemengsel (n = aantal monsters, $60 \mu\text{l}$ = volume van ATE-buffermengsel voor interne controle, $360 \mu\text{l}$ = vereist dode volume per buis).

Bijvoorbeeld voor 12 monsters ($n = 12$):

$(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Vul de buis niet met meer dan 1,92 ml (d.w.z., maximaal 26 monsters per buis). Gebruik aanvullende buizen indien er meer dan 26 monsters worden verwerkt en zorg ervoor dat het dode volume per buis wordt toegevoegd.

† Gebruik deze vergelijking voor het berekenen van het vereiste volume van het ATE-buffermengsel voor interne controle (n = aantal monsters,

$60 \mu\text{l}$ = volume van ATE-buffermengsel voor interne controle, $600 \mu\text{l}$ = vereist dode volume per buis). Bijvoorbeeld voor 96 monsters ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

‡ Raadpleeg www.qiagen.com/goto/dsphanbooks voor vereiste inzetten.

Bereiding van monstermateriaal

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (safety data sheets, SDS) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

Humaan volbloed

Voor isolatie van viraal DNA wordt het gebruik van volbloedmonsters die zijn behandeld met EDTA of citraat aanbevolen. Monsters moeten binnen 24 uur na verzameling worden verwerkt. Sla monsters op of vervoer deze bij 2–25 °C. Voor langere opslag wordt het aanbevolen aliquots bij -20 °C of -80 °C te bevriezen.

Meng de bloedmonsters grondig indien er verse bloedmonsters in primaire buizen worden gebruikt (bijv. door de buizen een aantal keer om te draaien) alvorens deze in de QIASymphony SP te plaatsen. Om betrouwbare overbrenging van het monster te verzekeren, dient u schuimvorming in de monsterbuizen te vermijden. Probeer bloedstolsels in de monsters te voorkomen en breng de monsters indien nodig zonder bloedstolsels over naar een nieuwe buis.

Revisiegeschiedenis

Document Revisiegeschiedenis	
R2 12/2017	Wijziging voor QIASymphony-software versie 5.0

Zie voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules de handleiding of gebruikershandleiding van de desbetreffende QIAGEN®-kit. Handleidingen en gebruikershandleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische dienst van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™, (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd. 12/2017 HB-0977-507-002 © 2017 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

Bestellen www.qiagen.com/shop | Technische ondersteuning support.qiagen.com | Website www.qiagen.com