

QIASymphony® DSP DNA Mini Kit Gebrauchsanweisung (Protokollblatt)

VirusBlood200_V5_DSP Protokoll

Version 2



In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem QIASymphony DSP DNA Mini Kit (192)



937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, 40724 Hilden, Deutschland

R1

Das Protokollblatt ist elektronisch unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar.

Allgemeine Informationen

Das QIASymphony DSP DNA Kit ist für den in-vitro-diagnostischen Gebrauch vorgesehen.

Dieses Protokoll dient zur Aufreinigung von Virus-DNA aus frischem humanem Vollblut unter Verwendung des QIASymphony SP und des QIASymphony DSP DNA Mini Kit. Virus-DNA aus freigesetzten Viren sowie aus zellassozierten Viren wird zusammen mit der genomischen DNA aus Blutzellen aufgereinigt.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (Kat.-Nr. 937236)
Probenmaterial	Humanes Vollblut (antikoaguliert mit EDTA oder Citrat)
Protokollbezeichnung	VirusBlood200_V5_DSP
Standard-Assay-Kontroll-Set	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Editierbar	Elutionsvolumen: 60, 85, 110 und 165 µl
Erforderliche Softwareversion	Version 4.0 oder höher
Erforderliche Softwarekonfiguration zur IVD-Verwendung	Standardprofil 1

Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Zur Vorbereitung des Gemischs aus interner Kontrolle und Buffer ATE

- 2-ml-Probenröhrchen (Sarstedt® Kat.-Nr. 72.693, ohne Stehrand)
- 2-ml-Probenröhrchen (Sarstedt Kat.-Nr. 72.694, mit Stehrand)
- BD™ 14 ml Falcon polystyrene round-bottom tube (Kat.-Nr. 352051)

Schublade „Sample“ (Probe)

Probentyp	Humanes Vollblut (antikoaguliert mit EDTA, Citrat oder Heparin)
Probenvolumen	Abhängig vom verwendeten Probenröhrchentyp. Weitere Informationen siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.
Primärprobenröhrchen	Weitere Informationen siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.
Sekundärprobenröhrchen	Weitere Informationen siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.
Einsätze	Abhängig vom verwendeten Probenröhrchentyp. Weitere Informationen siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.
Sonstiges	Gemisch aus interner Kontrolle und Buffer ATE erforderlich; Verwendung von interner Kontrolle ist optional

Schublade „Reagents and Consumables“ (Reagenzien und Verbrauchsmaterialien)

Position A1 und/oder A2	Reagenzienkartusche (RC)
Position B1	n. z.
Halter für Spitzenracks, Positionen 1-17	Einmal-Filterspitzen, 200 oder 1500 µl
Halter für Verbrauchsartikel-Container 1-4	Verbrauchsartikel-Container enthalten Probenvorbereitungskartuschen oder 8-Rod Covers.

n. z. = nicht zutreffend

Schublade „Waste“ (Abfall)

Halter für Verbrauchsartikel-Container 1–4	Leercontainer für Verbrauchsartikel
Halter für Abfallbeutel	Abfallbeutel
Halter für Flüssigabfallbehälter	Leerer Flüssigabfallbehälter

Schublade „Eluate“ (Eluat)

Elutionsracks (wir empfehlen die Verwendung von Platz 1, Kühlposition)

Weitere Informationen siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.

Erforderliche Kunststoff-Verbrauchsartikel

Kunststoff-Verbrauchsartikel	Eine Charge 24 Proben*	Zwei Chargen 48 Proben*	Drei Chargen 72 Proben*	Vier Chargen 96 Proben*
Disposable filter-tips, 200 µl†	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl†	98	188	278	368
Sample prep cartridges§	21	42	63	84
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Bei Verwendung von weniger als 24 Proben je Charge verringert sich die Anzahl der pro Lauf benötigten Einmal-Filterspitzen.

† Jedes Spitzenrack enthält 32 Filterspitzen.

‡ Bei der Zahl der erforderlichen Filterspitzen sind die für 1 Inventar-Scan pro RC benötigten Filterspitzen berücksichtigt.

§ Ein Verbrauchsartikel-Container enthält 28 Probenvorbereitungskartuschen.

¶ Ein Verbrauchsartikel-Container enthält zwölf 8-Rod Covers.

Hinweis: Die angegebene Anzahl von Filterspitzen kann je nach Einstellung von der auf dem Touchscreen angezeigten Anzahl abweichen. Wir empfehlen, die höchstmögliche Anzahl von Spitzen zu laden.

Ausgewähltes Elutionsvolumen

Ausgewähltes Elutionsvolumen (µl)*	Eingesetztes Elutionsvolumen (µl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* Das Elutionsvolumen wird auf dem Touchscreen ausgewählt. Es handelt sich um das mindestens verfügbare Eluatvolumen im finalen Elutionsröhrchen.

† Das eingesetzte Volumen an Elutionslösung, das erforderlich ist, um sicherzustellen, dass das tatsächliche Eluatvolumen dem ausgewählten Volumen entspricht.

Vorbereitung des Gemischs aus interner Kontrolle und Buffer ATE

Bei Verwendung des VirusBlood200_V5_DSP Protokolls in Kombination mit einem Amplifikationssystem, bei dem eine interne Kontrolle eingesetzt wird, kann das Mitführen dieser internen Kontrolle bei der Nukleinsäureaufreinigung erforderlich sein, um die Effizienz der Probenvorbereitung und des nachgelagerten Assays zu überwachen.

Die Menge der hinzugegebenen internen Kontrolle ist abhängig vom Assay-System und dem im VirusBlood200_V5_DSP Protokoll ausgewählten Elutionsvolumen. Berechnung und Validierung liegen in der Verantwortung des Anwenders. Informationen zur Bestimmung der optimalen Konzentration der internen Kontrolle sind der Gebrauchsanweisung des Herstellers für den nachgelagerten Assay zu entnehmen.

Interne Kontrollen müssen zusammen mit dem Gemisch aus interner Kontrolle und Buffer ATE (ATE) in einem Gesamtvolumen von 60 µl zugegeben werden. Es kann ein Gemisch aus internen Kontrollen verwendet werden, um in einem einzigen Eluat verschiedene Parameter zu analysieren. Die Kompatibilität der verschiedenen internen Kontrollen ist vom Anwender zu validieren. Wir empfehlen, unmittelbar vor jedem Lauf frische Gemische herzustellen. Die Verwendung von Buffer ATE ist auch dann erforderlich, wenn keine interne Kontrolle verwendet wird.

Ausgewähltes Elutionsvolumen (µl)	Eingesetztes Elutionsvolumen (µl)	Volumen interne Kontrolle (µl)*	Volumen Buffer ATE (ATE) (µl)	Finales Volumen je Probe (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

* Die Berechnung der Menge der internen Kontrolle basiert auf den eingesetzten Elutionsvolumen. Das zusätzliche Totvolumen ist abhängig von dem für das IC-Gemisch verwendeten Probenröhrchentyp www.qiagen.com.

Hinweis: Die in der Tabelle angezeigten Werte gelten für die Vorbereitung eines Gemischs aus interner Kontrolle und Buffer ATE für einen nachgelagerten Assay, der 0,1 µl interne Kontrolle/µl Eluat erfordert.

Die Röhrchen mit dem Gemisch aus interner Kontrolle und Buffer ATE werden in einen Röhrchenträger gestellt. Der Röhrchenträger mit dem/den Gemisch(en) aus interner Kontrolle und Buffer ATE muss in den Stellplatz A der Schublade „Sample“ (Probe) eingesetzt werden.

Abhängig von der Anzahl der zu verarbeitenden Proben empfehlen wir zur Verdünnung der internen Kontrolle die Verwendung von 2-ml Röhrchen (Sarstedt, Kat.-Nr. 72.693 und 72.694) oder von 14-ml-Polystyrol-Röhrchen mit Rundboden, 17 x 100 mm (BD, Kat.-Nr. 352051), wie in der nachstehenden Tabelle beschrieben. Es ist möglich, das Volumen auf 2 oder mehr Röhrchen aufzuteilen.

Berechnung des Volumens für das Gemisch mit interner Kontrolle

Röhrchentyp*	Name auf dem QIASymphony Touchscreen	Berechnung des Volumens für das Gemisch mit interner Kontrolle je Röhrchen
2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, Kat.-Nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt, Kat.-Nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD, Kat.-Nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17 x 100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\ddagger$

* Informationen über erforderliche Einsätze siehe die Labormaterialliste, die unter der Registerkarte „Resources“ (Ressourcen) auf der Produktseite unter www.qiagen.com verfügbar ist.

† Verwenden Sie diese Gleichung zur Berechnung des erforderlichen Volumens an Gemisch mit interner Kontrolle (n = Anzahl der Proben; $60 \mu\text{l}$ = Volumen des Gemischs aus interner Kontrolle und Buffer ATE; $360 \mu\text{l}$ = je Röhrchen erforderliches Totvolumen). Beispielsweise für 12 Röhrchen ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Befüllen Sie das Röhrchen nicht mit mehr als 1,92 ml (d. h. maximal 26 Proben je Röhrchen). Wenn mehr als 26 Proben verarbeitet werden, verwenden Sie zusätzliche Röhrchen. Stellen Sie dabei sicher, dass das Totvolumen pro Röhrchen zugegeben wird.

‡ Verwenden Sie diese Gleichung zur Berechnung des erforderlichen Volumens an Gemisch mit interner Kontrolle und Buffer ATE (n = Anzahl der Proben; $60 \mu\text{l}$ = Volumen des Gemischs aus interner Kontrolle und Buffer ATE; $600 \mu\text{l}$ = je Röhrchen erforderliches Totvolumen). Beispielsweise für 96 Röhrchen ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

Vorbereitung des Probenmaterials

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien stets einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Allgemeine Empfehlungen für Entnahme, Transport und Lagerung sind der genehmigten CLSI-Richtlinie MM13-A „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods“ zu entnehmen. Darüber hinaus ist bei Vorbereitung, Lagerung, Transport und allgemeiner Handhabung der Proben die Gebrauchsanweisung des Herstellers der ausgewählten Probenentnahmevorrichtung zu beachten.

Humanes Vollblut

Für die Isolierung von Virus-DNA empfehlen wir die Verwendung von mit EDTA oder Citrat behandelten Vollblutproben. Für eine kurzfristige Lagerung für bis zu 7 Tage empfehlen wir die Aufbewahrung bei 2–8 °C. Für eine längerfristige Lagerung empfehlen wir, gefrorene Aliquote bis zu 3 Monate lang bei –20 °C oder bis zu 1 Jahr lang bei –80 °C aufzubewahren.

Hinweis: Die Probenstabilität ist stark von verschiedenen Faktoren abhängig und mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung verbunden. Sie wurde für das QIASymphony DSP DNA Mini Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen ermittelt. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Gebrauchsanweisung der spezifischen, im Labor eingesetzten nachgelagerten Anwendung zurate zu ziehen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Lagerungsbedingungen zu ermitteln.

Bei Verwendung von frischen Blutproben in Primärröhrchen mischen Sie die Blutproben gründlich (z. B. durch mehrmaliges Überkopfdrehen der Röhrchen), bevor Sie sie auf den QIASymphony SP laden. Gefrorene Proben sind zügig in einem Wasserbad bei 37 °C unter leichter Bewegung aufzutauen, um eine gründliche Durchmischung sicherzustellen. Vor Beginn des Verfahrens sind sie auf Raumtemperatur (15–25 °C) zu äquilibrieren. Vermeiden Sie Schaumbildung in den Probenröhrchen, um eine zuverlässige Probenüberführung zu gewährleisten. Versuchen Sie, Blutgerinnsel in den Proben zu vermeiden, und überführen Sie falls nötig die Probe ohne Gerinnsel in ein frisches Röhrchen.

Lagerung von Eluaten

Es wird empfohlen, die Eluatplatte unmittelbar nach Abschluss des Laufs aus der Schublade „Eluate“ (Eluat) zu entnehmen. Elutionsplatten können nach Abschluss eines Laufs über Nacht im QIASymphony SP verbleiben (maximal 12 Stunden einschließlich Laufzeit; empfohlene Umgebungsbedingungen: 18–26 °C bei 20–75 % relativer Luftfeuchtigkeit). Je nach Temperatur und Luftfeuchtigkeit kann es im Eluat zu Kondensation oder Verdunstung kommen.

Für die kurzfristige Lagerung von Eluaten bis zu 7 Tage empfehlen wir die Aufbewahrung der aufgereinigten Nukleinsäuren bei 2–8 °C. Für eine längerfristige Lagerung empfehlen wir die Aufbewahrung bei –20 oder –80 °C.

Hinweis: Die Eluatstabilität ist stark von verschiedenen Faktoren abhängig und mit der spezifischen nachgelagerten Anwendung verbunden. Sie wurde für das QIASymphony DSP DNA Mini Kit in Verbindung mit beispielhaften nachgelagerten Anwendungen ermittelt. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Gebrauchsanweisung der spezifischen, im Labor eingesetzten nachgelagerten Anwendung zurate zu ziehen und/oder den gesamten Arbeitsablauf zu validieren, um geeignete Lagerungsbedingungen zu ermitteln.

Störsubstanzen





Blutproben mit hohen Konzentrationen an Triglyceriden (> 30 g/l) können zu einer geringeren gDNA-Ausbeute führen.

Hinweis: Die Tests wurden anhand beispielhafter nachgelagerter Anwendungen durchgeführt, um die Qualität der extrahierten Nukleinsäuren zu beurteilen. Verschiedene nachgelagerte Anwendungen können jedoch unterschiedliche Anforderungen an die Reinheit stellen (d. h. Abwesenheit potenzieller Störsubstanzen). Aus diesem Grund müssen auch die Identifizierung und das Testen relevanter Substanzen im Rahmen der Entwicklung nachgelagerter Anwendungen für jeden Workflow mit dem QIASymphony DSP DNA Mini Kit etabliert werden.

Hinweis: Gemäß ISO 20186-2:2019(E) kann Heparin aus Blutentnahmeröhrchen die Reinheit der isolierten Nukleinsäuren beeinträchtigen und eine mögliche Verschleppung in die Eluate könnte bei einigen nachgelagerten Anwendungen zu Inhibitionen führen. Aus diesem Grund empfehlen wir zur Plasmagewinnung die Verwendung von mit EDTA oder Citrat als Antikoagulans behandelten Blutproben.

Symbole

Die folgenden Symbole werden in diesem Dokument verwendet. Eine vollständige Liste der in der Gebrauchsanweisung oder auf Verpackung und Etikettierung verwendeten Symbole finden Sie im Handbuch.

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
	In-vitro-Diagnostikum
	Katalognummer
Rn	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer
	Hersteller

Bearbeitungsverlauf

Revision	Beschreibung
R1, Juni 2022	<p>Version 2, Revision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Aktualisierung auf Version 2 für Konformität mit IVD• Hinzufügung des Abschnitts „Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien“• Hinzufügung des Abschnitts „Störsubstanzen“• Hinzufügung des Abschnitts „Lagerung von Eluaten“• Hinzufügung des Abschnitts „Symbole“• Aktualisierung des Abschnitts „Vorbereitung des Probenmaterials“

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN® Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.
06/2022 HB-3029-S06-001 © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.