

Desember 2017

QIASymphony[®] SP protokollark

Complex400_V4_DSP-protokoll

Dette dokumentet er Complex400_V4_DSP QIASymphony SP protokollark, R2, for QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versjon 1.

Generell informasjon

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit er beregnet for bruk i in vitro-diagnostikk.

Sett	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Prøvemateriale	Respiratoriske og urogenitale prøver
Protokollnavn	Complex400_V4_DSP
Standard analysekontrollsett	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Redigerbar	Eluatvolum: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Nødvendig programvareversjon	Versjon 4.0 eller høyere

Skuffen "Sample" (Prøve)

Prøvetype	Respiratoriske prøver (BAL, tørkede pinner, transportmedier, aspirater, spytt) og urogenitale prøver (urin, transportmedier)
Prøvevolum	Avhenger av typen prøverør som brukes. Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Primære prøverør	Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Sekundære prøverør	Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Innlegg	Avhenger av typen prøverør som brukes. Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Annet	Krever bærer-RNA-buffer AVE-blanding; bruk av internkontroll er valgfritt

Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksmaterialer)

Posisjon A1 og/eller A2	Reagenskasset (Reagent cartridge, RC)
Posisjon B1	Buffer ATL (ATL)
Spisstativholder 1-17	Engangsfilterspisser, 200 µl
Spisstativholder 1-17	Engangsfilterspisser, 1500 µl
Enhetsboksholder 1-4	Enhetsbokser som inneholder prøveklargjøringskassetter
Enhetsboksholder 1-4	Enhetsbokser som inneholder 8-stangdeksler

Skuffen "Waste" (Avfall)

Enhetsboksholder 1-4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Væskeavfallsflaske

Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon)

Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks

Nødvendige plastdeler

	Ett parti, 24 prøver*	To partier, 48 prøver*	Tre partier, 72 prøver*	Fire partier, 96 prøver*
Engangsfilterspisser, 200 µl†‡	34	60	86	112
Engangsfilterspisser, 1500 µl†‡	123	205	295	385
Prøveklargjøringskassetter §	18	36	54	72
8-stangdeksler¶	3	6	9	12

* Bruk av mer enn én internkontroll per parti og utføring av mer enn én inventarskanning krever ekstra engangsfilterspisser. Bruk av mindre enn 24 prøver per parti reduserer antallet engangsfilterspisser som kreves per kjøring.

† Det er 32 filterspisser/spisstativ.

‡ Antall påkrevde filterspisser omfatter filterspisser for 1 beholdningskanning per reagenskasset.

§ Det er 28 prøveklargjøringskassetter/enhetseske.

¶ Det er tolv 8-stangdeksler/enhetseske.

Merk: Antall angitte filterspisser kan avvike fra antallene vist på berøringsskjermen avhengig av innstillinger, f.eks. antall internkontroller som brukes per parti.

Valgt elueringsvolum

Valgt elueringsvolum (µl)*	Innledende elueringsvolum (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Elueringsvolumet valgt på berøringsskjermen. Dette er minimumsvolumet av tilgjengelig eluat i det endelige elueringsrøret.

† Det innledende volumet av elueringsløsning som kreves for å sikre at det faktiske eluatvolumet er det samme som det valgte volumet.

Klargjøring av intern kontrollbærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)-blanding

Valgt elueringsvolum (µl)	Volumstamme bærer-RNA (BÆRER) (µl)	Voluminternkontroll (µl)*	Volumbuffer AVE (AVE) (µl)	Endelig volum per prøve (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Beregningen av mengden internkontroll er basert på de innledende elueringsvolumene. Ytterligere tomvolum avhenger av typen prøverør som brukes. Mer informasjon finnes på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Merk: Verdiene i tabellen er for klarlegging av internkontroll-bærer-RNA (BÆRER)-blanding for en nedstrømsanalyse som krever 0,1 µl internkontroll/µl eluat.

Rør som inneholder intern kontrollbærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)-blanding er plassert i en rørbærer. Rørbæeren som inneholder intern kontrollbærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)-blanding(er) må være plassert i åpning A på prøveskuffen.

Avhengig av antall prøver som skal behandles, anbefaler vi å bruke 2 ml slanger (Sarstedt, kat.nr. 72.693 eller 72.694) eller 14 ml 17 x 100 mm polystyren, rundbunnede rør (Becton Dickinson, kat.nr. 352051) for å fortynne internkontrollen, som beskrevet i tabellen nedenfor. Volumet kan deles i 2 eller flere slanger.

Beregne volumet av internkontrollblanding

Rørtype	Navn på QIASymphony berørings skjerm	Kalkulering av intern kontrollbærer-RNA (CARRIER)-buffer AVE (AVE)-blandingsvolum per rør
Mikrorør 2 ml med lokk; mikrorør 2 ml, PP, MED SKJØRT, (Sarstedt, kat.nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikrorør 2 ml med hette; mikrorør 2 ml, PP, UTEN SKJØRT, (Sarstedt, kat.nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Rør 14 ml, 17 x 100 mm polystyren rund bunn (Becton Dickinson, kat.nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Bruk denne ligningen til å beregne det påkrevde volumet av internkontrollblanding (n = antall prøver; 120 µl = volum av internkontroll-bærer-RNA (CARRIER)-buffer AVE (AVE)-blanding; 360 µl = tomvolum som kreves per rør). For eksempel for 12 prøver (n = 12): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Ikke fyll røret med mer enn 1,9 ml (dvs. maksimalt 12 prøver per rør). Hvis mer enn 12 prøver skal behandles, bruk ekstra rør, se til at det tomme volumet tilføres per rør.

† Bruk denne ligningen til å beregne det nødvendige volumet av internkontroll-bærer-RNA (BÆRER)-buffer AVE (AVE)-blanding (n = antall prøver; 120 µl = volum av internkontroll-bærer-RNA (CARRIER)-buffer AVE (AVE)-blanding; 600 µl = tomvolum som kreves per rør). For eksempel for 96 prøver (n = 96): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

Nødvendig innlegg er angitt på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Bruke FIX labware

Bruk av væsknivådeteksjon (liquid-level detection, LLD) for prøveoverføring gjør det mulig med bruk av primære og sekundære rør. Men dette krever visse dødvolume i de respektive rørene. For å minimere dødvolume skal sekundære rør brukes uten væsknivådeteksjon. Spesifikt FIX-laboratorieutstyr er tilgjengelig (f.eks. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) som også kan velges på QlAsymphony SPs berørings skjerm. Dette røret/stativtypen medfører aspirasjonsbegrensninger. Prøven aspireres ved en spesiell høyde i røret, som er definert av volumet på prøven som skal overføres. Derfor er det vesentlig å påse at volumet angitt i listen over laboratorieutstyr brukes. Lister over laboratorieutstyr kan lastes ned fra www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Prøverør som kan brukes med eller uten væsknivåpåvisning, og nødvendige prøvevolumer, er også angitt på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Ikke bruk volum som er større eller mindre enn det nødvendige volumet, da dette kan føre til feil i løpet av prøveklargjøringen.

Rør for væsknivåpåvisning og rør som ikke er for væsknivåpåvisning, kan behandles i ett parti/kjøring.

Klargjøring av prøvematerialer

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende HMS-datablad (material safety data sheets, MSDS) som leveres av leverandøren av produktet dersom du ønsker mer informasjon.

Urin

Urin kan behandles uten videre forhåndsbehandling. Overfør prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (kat.nr. 72.693 eller 72.694), og plasser prøven i rørholderen. Alternativt kan primærrør brukes. Det påkrevde minste startvolumet kan variere, avhengig av benyttet primærrør. Kompatible primær- og sekundærrørformater, herunder minste startvolum som kreves for hver protokoll, er angitt på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Systemet er optimalisert for rene urinprøver som ikke inneholder konserveringsmidler. For å øke sensitiviteten for bakterielle patogener kan prøver sentrifugeres. Når supernatanten er forkastet, kan pelleten resuspenderes i minst 500 µl buffer ATL (ATL) (kat.nr. 939016). Overfør prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (kat.nr. 72.693 eller 72.694). Plasser prøven inn i rørbærer og behandle prøven ved bruk av Complex400_V4_DSP-protokollen og den nødvendige FIX labware.

Isolering av genomisk DNA fra grampositive bakterier

DNA-rensing kan klargjøres for visse grampositive bakterier ved enzymatisk forhåndsbehandling før prøven overføres til QIASymphony SP og Complex400_V4_DSP-protokollen startes.

1. Pelleter bakterier ved sentrifugering ved 5000 x g i 10 minutter.
2. Suspender bakteriepelleten i 500 µl egnet enzymløsning (20 mg/ml lysozym eller 200 µg/ml lysostafin; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100).
3. Inkuber ved 37 °C i minst 30 minutter (± 2 minutter).
4. Sentrifuger røret kort for å fjerne dråper fra innsiden av lokket.
5. Overfør prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (kat.nr. 72.693 eller 72.694), plasser prøven i rørholderen, og fortsett med Complex400_V4_DSP-protokollen ved hjelp av det nødvendige FIX-laboratorieutstyret.

Viskøse prøver eller slimprøver

Noen prøver (f.eks. spytt, respiratoriske aspirater) kan være viskøse og kreve smelting for å muliggjøre pipettering. Lavviskositetsprøver krever ikke ytterligere klargjøring. Prøver med middels til høy viskositet må klargjøres på følgende måte:

1. Fortynn prøven 1:1 med sputasol*† (Oxoid, kat.nr. SR0233) eller 0,3 % ((vekt/volum)) DTT.
Merk: Den 0,3 % ((vekt/volum)) DTT-løsningen kan tillages på forhånd og lagres i alikvoter ved -20 °C. Kast tinte alikvoter etter bruk.
2. Inkuberer ved 37 °C til prøveviskositeten er egnet til pipettering.
3. Overfør minst 500 µl av prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (kat.nr. 72.693 eller 72.694). Behandle prøven med Complex400_V4_DSP-protokollen.

Tørket kroppsvæske og utsondringspinner

1. Neddykk den tørkede vattpinnen i 750 µl Buffer ATL (ATL) (kat.nr. 939016) og inkuber ved 56 °C i 15 minutter (± 1 minutt), med kontinuerlig blanding. Hvis blanding ikke er mulig, roter i minst 10 sekunder før og etter inkubering.
2. Fjern pinnen og klem ut all væsken ved å presse pinnen mot innsiden av røret.
3. Overfør minst 500 µl av prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (kat.nr. 72.693 eller 72.694). Behandle prøven med Complex400_V4_DSP-protokollen.

* Sputasol (Oxoid, kat.nr. SR0233, www.oxoid.com) eller ditiotreitol (DTT).

† Dette er ikke en fullstendig liste over leverandører.

Merk: Denne protokollen er optimalisert for bomulls- eller polyetylenpinner. Når andre pinner brukes, kan det være nødvendig å justere volumet av buffer ATL (ATL) for å sikre at minst 500 µl er tilgjengelig som prøvemateriale.

Respiratoriske eller urogenitale pinner lagret i transportmedium

Lagringsmedier for respiratoriske eller urogenitale pinner kan brukes uten forhåndsbehandling. Hvis pinnen ikke har blitt fjernet, trykk vattpinnen mot innsiden av røret for å klemme ut væsken. Overskytende slim i prøven bør fjernes nå ved å samle det på pinnen. Restvæske fra slimet og pinnen bør deretter klemmes ut ved å presse pinnen mot siden av røret. Til slutt bør pinnen og slimet fjernes og kastes. Hvis prøver er viskøse, utfører du et smeltetrinn (se "Viskøse eller slimholdige prøver" ovenfor) før prøven overføres til QIASymphony SP. Hvis det ikke er tilstrekkelig utgangsmateriale, skal du pipettere buffer ATL (ATL) til transportmediet for å justere det nødvendige minste startvolumet og rotere prøven i 15–30 sekunder i røret (hvis transportmediet inneholder pinnen, skal du utføre dette trinnet før du fjerner pinnen). Overfør prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (kat.nr. 72.693 eller 72.694), og plasser prøven i rørholderen. Alternativt kan primærrør brukes. Det påkrevde minste startvolumet kan variere, avhengig av benyttet primærrør. Kompatible primær- og sekundærrør, herunder minste startevolum som kreves for hver protokoll, er angitt på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Endringshistorikk

Endringshistorikk for dokument	
R2 12/2017	Oppdatering for QIASymphony programvareversjon 5.0

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se den respektive håndboken eller bruksanvisningen for QIAGEN® Kit. Håndbøker og bruksanvisninger for QIAGEN Kits er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENS tekniske tjenester eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet skal ikke anses som ikke-beskyttet ved lov selv når de ikke er spesielt merket som sådan.
12/2017 HB-0301-S28-002 © 2017 QIAGEN. Med enerett.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettside www.qiagen.com