

December 2017

QIASymphony[®] SP-protokollblad

Complex400_OBL_V4_DSP-protokoll

Detta dokument är Complex400_OBL_V4_DSP QIASymphony SP:s protokollblad R2, för QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, version 1.

Allmän information

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit är avsett för in vitro diagnostik.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Provmaterial	Respiratoriska och urogenitala prover
Protokollnamn	Complex400_OBL_V4_DSP
Förvald analyskontrolluppsättning	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
Redigerbar	Eluatvolym: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller senare

Lådan "Sample" (Prov)

Provtyp	Respiratoriska prover (BAL, torkade svabbar, transportmedier, aspirat, sputum) och urogenitala prover (urin, transportmedier)
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 bärar-RNA-AVE-buffert krävs, användning av intern kontroll är frivillig

Lådan "Reagents and Consumables" (Reagens och förbrukningsmaterial)

Position A1 och/eller A2	Reagenskasset (RC)
Position B1	Ej relevant
Spetsrackhållare 1-17	Engångsfilterspetsar, 200 µl
Spetsrackhållare 1-17	Engångsfilterspetsar, 1500 µl
Hållare för enhetslådor 1-4	Enhetslådor innehållande provberedningskassetter
Hållare för enhetslådor 1-4	Enhetslådor innehållande 8-stavsskydd

n/a = ej relevant.

Lådan "Waste" (Avfall)

Hållare för enhetslådor 1-4	Tomma enhetslådor
Avfallspåhållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	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*
Engångsfilterspetsar, 200 µl ^{†‡}	96	96	128	128
Engångsfilterspetsar, 1500 µl ^{†‡}	128	192	224	288
Provprepareringskassetter [§]	18	36	54	72
8-stavsskydd [¶]	3	6	9	12

* Om du utför mer än en inventarieskanning krävs det extra engångsfilterspetsar. Om färre än 24 prover per batch används minskas antalet engångspetsar som krävs per körning.

[†] Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

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

[§] Det finns 28 provprepareringskassetter/enhetslåda.

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

Obs! Givet antal filterspetsar kan skilja sig från det antal som visas på pekskärmen beroende på inställningarna, till exempel det antal interna kontroller som används per batch.

Vald elueringsvolym

Vald elueringsvolym (µl)*	Första elueringsvolym (µl) [†]
60	90
85	115
110	140

* 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.

Förberedelse av bärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandningar för intern kontroll

Vald elueringsvolym (µl)	Volym stam-bärar-RNA (BÄRARE) (µl)	Volym intern kontroll (µl)*	Volym AVE-buffert (AVE) (µl)	Slutlig volym per prov (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* 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 intern kontroll-bärar-RNA-blandning (BÄRARE) för en nedströms analys som kräver 0,1 µl intern kontroll/µl eluat.

Extern lysering

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

QIASymphony Complex-protokollen består av 4 steg: lysering, bindning, tvätt, eluering. För vissa prover är det användbart att utföra lysering manuellt, till exempel för inaktivering av patogener i ett biosäkerhetsskåp. Complex400_OBL_V4_DSP-protokollet möjliggör utförande av manuell lysering på ett liknande sätt som för Complex400_V4_DSP-protokollet. Förbehandlade prover överförs till QIASymphony SP och bearbetas med protokollet Complex400_OBL_V4_DSP.

Obs! Complex400_OBL_V4_DSP-protokollet kräver buffert-ACL och buffert-ATL (ATL). Buffert-ACL (kat.nr. 939017) och buffert-ATL (ATL) (kat.nr. 939016) är inte en del av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit och måste beställas separat.

Manuell lysering

1. Pipettera 40 µl proteinas K, 165 µl buffert-ATL (ATL), 120 µl bärar-RNA intern kontrollblandning och 315 µl buffert-ACL i ett 2 ml Sarstedt-provrör (kat.nr. 72.693 eller 72.694).

Obs! När fler än ett prov kommer att bearbetas med manuell lysering kan en stamlösning av denna lösning beredas. Multiplicera bara volymerna som krävs för ett prov med det totala antalet prover som ska bearbetas och inkludera ytterligare volym till motsvarande 2 extra prover. Vänd provröret flera gånger för att blanda, överför 640 µl till ett 2 ml Sarstedt-provrör för varje prov och fortsätt sedan för varje prov med steg 4.

2. Stäng locket och blanda försiktigt genom att vända röret 5 gånger.
3. Centrifugera provröret som hastigast för att avlägsna droppar från lockets insida.
4. Tillsätt 400 µl prov till provröret, stäng locket och blanda genom puls-vortex i 10 sekunder.
5. Inkubera provröret vid 68 °C i 15 minuter (± 1 minut).
6. Centrifugera provröret som hastigast för att avlägsna droppar från lockets insida.
7. Placera insatserna för de lämpliga provrören i en provrörshållare och sätt in provrören (utan lock).

Förberedelse av provmaterial

Urin

Urin kan bearbetas utan ytterligare förbehandling. Systemet är optimerat för rena urinprover som inte innehåller konserveringsmedel. För att öka känsligheten för bakteriella patogener kan proverna centrifugeras. Efter kassering av supernatanten kan pelleten resuspenderas i minst 400 µl buffert-ATL (ATL) (kat.nr. 939016). Använd 400 µl av det förbehandlade materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.

Isolering av genomt DNA från grampositiva bakterier

DNA-reningen kan förbättras för vissa grampositiva bakterier genom enzymatisk förbehandling innan provet överförs till QIAAsymphony SP och protokollet Complex400_OBL_V4_DSP startas.

1. Låt bakterierna bilda en pellet genom centrifugering vid 5000 x g i 10 minuter.
2. Suspendera bakteriepelleten i 400 µl av lämplig enzymlösning (20 mg/ml lysozym eller 200 µg/ml lysostafin i 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % Triton X-100).
3. Inkubera vid 37 °C i minst 30 minuter (± 2 minuter).
4. Centrifugera provröret som hastigast för att avlägsna droppar från lockets insida.
5. Använd 400 µl av det förbehandlade materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.

Viskösa eller mukösa prover

Vissa prover (exempelvis sputum, respiratoriska aspirat) kan vara viskösa och behöva omvandlas till vätska för att möjliggöra pipettering. Prover med låg viskositet kräver ingen ytterligare preparering. Prover med medelhög till hög viskositet ska beredas på följande sätt:

1. Späd provet 1:1 med Sputasol*† (Oxoid, kat.nr. SR0233) eller 0,3 % (w/v) DTT.
Obs! 0,3 % DTT-lösningen kan iordningställas i förväg och förvaras i lämpliga alikvoter vid -20 °C. Tinade alikvoter ska kasseras efter användning.
2. Inkubera vid 37 °C tills provets viskositet är lämplig för pipettering.
3. Använd 400 µl av det förbehandlade materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.

Torkade svabbar med kroppsvätskor och sekret

1. Blötlägg den torkade svabbspetsen i 650 µl ATL-buffert (kat.nr. 939016) och inkubera vid 56 °C i 15 min (± 1 minut), med oavbruten omrörning. Om omrörning inte är möjlig ska du använda vortex i minst 10 s före och efter inkuberingen.
2. Avlägsna svabben och pressa ut all vätska genom att trycka svabben mot provrörets insida.
3. Använd 400 µl av det förbehandlade materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.

Obs! Detta protokoll är optimerat för svabbar av bomull eller polyetylen. Om andra svabbar används kan mängden ATL-buffert (ATL) behöva justeras för att säkerställa att minst 400 µl blir tillgängligt som provmaterial.

Respiratoriska och urogenitala svabbar

Lagringsmedia för respiratoriska och urogenitala svabbar kan användas utan förbehandling. Om svabben inte har avlägsnats ska den tryckas mot provrörets insida för att pressa ut vätskan. Eventuella rester av mukus i provet ska avlägsnas vid denna punkt genom att samla upp dem på svabben. Eventuell kvarstående vätska från mukus och svabben ska därefter pressas ut genom att trycka svabben mot provrörets insida. Slutligen ska svabben och mukus avlägsnas och kasseras. Om proverna är viskösa måste de omvandlas till vätska (se "Viskösa och mukösa prover" ovan) innan provet överförs till QIASymphony SP. Om det inte finns tillräckligt med startmaterial ska ATL-buffert pipetteras till transportmediet för att justera erforderlig minsta startvolym och provet köras i vortex i 15–30 sekunder i provröret (om transportmediet innehåller svabben ska detta steg utföras innan svabben avlägsnas). Använd 400 µl av materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.

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

† Detta är inte en fullständig lista över leverantörer.

Revisionshistorik

Dokumentrevisioner	
R2 12/2017	Uppdatering för QIAsymphony Software version 5.0

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i handboken eller bruksanvisningen för respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGENS tekniska support eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerade namn, varumärken etc. som används i det här dokumentet ska inte anses som oskyddade enligt lag även om de inte uttryckligen anges som skyddade.
12/2017 HB-0301-S29-002 © 2017 QIAGEN, med ensamrätt.

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