

Desember 2017

# QIASymphony<sup>®</sup> SP protokollark

## Complex800\_OBL\_V4\_DSP-protokoll

Dette dokumentet er Complex800\_OBL\_V4\_DSP QIASymphony SP protokollark, R2, for QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versjon 1.

## Generell informasjon

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

<b>Sett</b>	QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
<b>Prøvemateriale</b>	Respiratoriske og urogenitale prøver
<b>Protokollnavn</b>	Complex800_OBL_V4_DSP
<b>Standard analysekontrollsett</b>	ACS_Complex800_OBL_V4_DSP
<b>Redigerbar</b>	Elueringsvolum: 60 µl, 85 µl, 110 µl
<b>Nødvendig programvareversjon</b>	Versjon 4.0 eller høyere

## Skuffen "Sample" (Prøve)

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

## Skuffen "Reagents and Consumables" (Reagenser og forbruksmaterialer)

<b>Posisjon A1 og/eller A2</b>	Reagenskasset (Reagent cartridge, RC)
<b>Posisjon B1</b>	ikke relevant
<b>Spisstativholder 1-17</b>	Engangsfilterspisser, 200 µl
<b>Spisstativholder 1-17</b>	Engangsfilterspisser, 1500 µl
<b>Enhetsbokholder 1-4</b>	Enhetsbokser som inneholder prøveklargjøringskassetter
<b>Enhetsbokholder 1-4</b>	Enhetsbokser som inneholder 8-stangdeksler

n/a = ikke relevant.

## Skuffen "Waste" (Avfall)

<b>Enhetsbokholder 1-4</b>	Tomme enhetsbokser
<b>Avfallsposeholder</b>	Avfallspose
<b>Holder for væskeavfallsflaske</b>	Væskeavfallsflaske

## Skuffen "Eluate" (Eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon)

Mer informasjon finnes på  
[www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://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 <sup>†‡</sup>	96	96	128	128
Engangsfilterspisser, 1500 µl <sup>†‡</sup>	128	192	224	288
Prøveklargjøringskassetter <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-stangdeksler <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Utføring av mer enn én inventarskanning krever ekstra engangsfilterspisser. Bruk av mindre enn 24 prøver per parti reduserer antallet engangsspisser som kreves per kjøring.

<sup>†</sup> Det er 32 filterspisser/spisstativ.

<sup>‡</sup> Antall påkrevde filterspisser omfatter filterspisser for 1 beholdningskanning per reagenskasset.

<sup>§</sup> Det er 28 prøveklargjøringskassetter/enhetseske.

<sup>¶</sup> 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) <sup>†</sup>
60	90
85	115
110	140

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

<sup>†</sup> 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](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

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

## Ekstern lysering

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.

QIASymphonys komplekse protokoller består av 4 trinn: lyser, bind, vaske, eluer. For noen prøver er det nyttig å utføre lysering manuelt, for eksempel for inaktivering av patogener i et biosikkerhetsskap. Complex800\_OBL\_V4\_DSP-protokollen muliggjør manuell lysering som skal utføres på en lignende måte som for Complex800\_V6\_DSP-protokollen. Forhåndsbehandlede prøver overføres til QIASymphony SP og behandles med Complex800\_OBL\_V4\_DSP-protokollen.

**Merk:** Complex800\_OBL\_V4\_DSP-protokollen krever buffer ACL og buffer ATL (ATL). Buffer ACL (kat.nr. 939017) og buffer ATL (ATL) (kat.nr. 939016) er ikke del av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit og må bestilles separat.

## Manuell lysering

1. Pipetter 80 µl proteinase K, 295 µl buffer ATL (ATL), 120 µl bærer-RNA-internkontrollblanding og 560 µl buffer ACL i et 4,5 ml rør (Nunc kryorør 12,5 x 92 mm, 4,5 ml polypropylenrør, Nunc kat.nr. 363452).

**Merk:** Når mer enn én prøve skal behandles med manuell lysering, kan en stamløsning av denne løsningen klarlegjøres. Multipliser volumene som kreves for én prøve med det totale antallet prøver som skal behandles, og inkluder ytterligere volum til ekvivalenten av 2 ekstra prøver. Vend røret flere ganger for å blande, overfør 1055 µl til et 4,5 ml rør for hver prøve, og fortsett deretter for hver prøve med trinn 4.

2. Lukk lokket og bland ved å vende røret 5 ganger.
3. Sentrifuger røret kort for å fjerne dråper fra innsiden av lokket.
4. Tilfør 800 µl prøve til røret, lukk lokket og bland grundig med puls-vorteks i 10 sekunder.
5. Inkuber røret ved 68 °C i 15 minutter (± 1 minutt).
6. Sentrifuger røret kort for å fjerne dråper fra innsiden av lokket. Plasser innleggene for de relevante prøverørene i en rørholder og last inn prøverørene (uten lokk).

## Klargjøring av prøvematerialer

### Urin

Urin kan behandles uten videre forhåndsbehandling. 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 800 µl buffer ATL (ATL) (kat.nr. 939016). Bruk 800 µl av det forhåndsbehandlede materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.

### 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 Complex800\_OBL\_V4\_DSP-protokollen startes.

1. Pelleter bakterier ved sentrifugering ved 5000 x g i 10 minutter.
2. Suspender bakteriepelleten i 800 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. Bruk 800 µl av det forhåndsbehandlede materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.

### 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:** 0,3 % DTT-løsning kan tillages på forhånd og lagres ved -20 °C i egnede alikvoter.  
En finet alikvot bør kastes etter bruk.
2. Inkuberer ved 37 °C til prøveviskositeten er egnet til pipettering.
3. Bruk 800 µl av det forhåndsbehandlede materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.

#### Tørket kroppsvæske og utsondringspinner

1. Neddykk den tørkede vattpinnen i 1050 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. Bruk 800 µl av det forhåndsbehandlede materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.  
**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 800 µl er tilgjengelig som prøvemateriale.

#### Respiratoriske eller urogenitale pinner

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). Bruk 800 µl av materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.

\* Sputasol (Oxoid, kat.nr. SR0233, [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com)) eller ditiotreitol (DTT).

† Dette er ikke en fullstendig liste over leverandører.

## 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](http://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-S31-002 © 2017 QIAGEN. Med enerett.

---

Bestilling [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk støtte [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Nettside [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)