

December 2017

QIASymphony[®] SP-protokolark

Complex400_V4_DSP-protokol

Dette dokument er *protokolarket* til *Complex400_V4_DSP QIASymphony SP, R2*, til *QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit*, version 1.

Generelle oplysninger

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit er beregnet til in vitro-diagnostisk brug.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Prøvemateriale	Respiratoriske og urogenitale prøver
Protokolnavn	Complex400_V4_DSP
StandardanalysekontROLSÆT	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Redigerbar	Elueringsvolumen: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Påkrævet softwareversion	Version 4.0 eller højere

Skuffen "Sample" (prøve)

Prøvetype	Respiratoriske prøver (BAL, tørrede podepinde, transportmedier, aspirater, sputum) og urogenitale prøver (urin, transportmedier)
Prøvevolumen	Afhænger af den anvendte prøveglastype, for at få flere oplysninger se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primære prøveglas	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger.
Sekundære prøveglas	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger.
Indsætter	Afhænger af den anvendte prøveglastype, for at få flere oplysninger se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Andet	Bærer-RNA-buffer-AVE-blanding er påkrævet; brug af intern kontrol er valgfri

Skuffen "Reagents and Consumables" (reagenser og forbrugsartikler)

Position A1 og/eller A2	Reagensbeholder (Reagent cartridge, RC)
Position B1	Buffer ATL (ATL)
Spidsrackholder 1-17	Engangsfilterspidser, 200 µl
Spidsrackholder 1-17	Engangsfilterspidser, 1500 µl
Enhedsboksholder 1-4	Enhedsbokse med prøveklargøringsbeholdere
Enhedsboksholder 1-4	Enhedsbokse med 8-stavs dæksler

Skuffen "Waste" (affald)

Enhedsboksholder 1-4	Tomme enhedsbokse
Affaldsposeholder	Affaldspose
Væskeaffaldsflaskeholder	Væskeaffaldsflaske

Skuffen "Eluate" (eluat)

Elueringsrack (vi anbefaler at anvende åbning 1, afkølingsposition)

Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for at få flere oplysninger

Påkrævede plastikprodukter

	Et batch, 24 prøver*	To batches, 48 prøver*	Tre batches, 72 prøver*	Fire batches, 96 prøver*
Engangsfilterspidser, 200 µl†‡	34	60	86	112
Engangsfilterspidser, 1500 µl†‡	123	205	295	385
Prøveklargøringsbeholdere §	18	36	54	72
8-stavs dæksler†	3	6	9	12

* Brug af mere end et rør med intern kontrol pr. batch og gennemførelse af mere end en indholdsscanning kræver ekstra engangsfilterspidser. Anvendelse af mindre end 24 prøver pr. batch reducerer antallet af engangsfilterspidser påkrævet pr. kørsel.

† Der er 32 filterspidser/spidsrack.

‡ Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. reagensbeholder.

§ Der er 28 prøveklargøringsbeholdere/enhedsboks.

† Der er tolv 8-stavs dæksler/enhedsboks.

Bemærk: Antallet af angivne filterspidser kan afvige fra det antal, der vises på berøringsskærmen, afhængigt af indstillinger, for eksempel antal interne kontroller, der er anvendt pr. batch.

Valgt elueringsvolumen

Valgt elueringsvolumen (µl)*	Initielt elueringsvolumen (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Elueringsvolumen vælges på berøringsskærmen. Dette er det minimalt tilgængelige eluatvolumen i det sidste elueringsrør.

† Det initiale volumen af elueringsopløsning, der skal til for at sikre, at det aktuelle eluatvolumen er det samme som det forvalgte volumen.

Klargøring af intern kontrol-bærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) - blanding

Valgt elueringsvolumen (µl)	Volumen af stambærer-RNA (CARRIER) (µl)	Volumen af intern kontrol (µl)*	Volumen af buffer-AVE (AVE) (µl)	Endelig volumen pr. prøve (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Beregningen af mængden af intern kontrol er baseret på de initiale elueringsvolumener. Dette afhænger af den anvendte prøveglastype; for at få flere oplysninger se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Bemærk: Værdierne, der vises i tabellen, er til klarlægning af den interne kontrol-bærer-RNA (CARRIER) blanding til downstream-analysen, som kræver 0,1 µl intern kontrol/µl eluat.

Rør indeholdende intern kontrol-bærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) -blandinger placeres i en rørholder. Rørholderen med de(n) interne kontrol-bærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)-blanding(er) skal placeres i plads A i prøveskuffen.

Afhængig af antallet af prøver, der skal behandles, anbefaler vi at anvende 2 ml-rør (Sarstedt, katalognr. 72.693 eller 72.694) eller 14 ml 17 x 100 mm rør af polystyren med rund bund (Becton Dickinson, katalognr. 352051) til fortynding af den interne kontrol, som beskrevet i tabellen nedenfor. Volumenen kan fordeles i 2 eller flere rør.

Beregning af volumenen af den interne kontrolblanding

Rørtype	Navn på QIA-symphony-berøringskærm	Beregning af intern kontrol-bærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) - blandingsvolumen pr. rør
Mikrorør 2 ml med hætte; mikrorør 2 ml, PP, MED KRAVE (Sarstedt, katalognr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikrorør 2 ml med hætte; mikrorør 2 ml, PP, UDEN KRAVE (Sarstedt, katalognr. 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 af polystyren med rund bund (Becton Dickinson, katalognr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Brug denne ligning til at beregne den påkrævede mængde intern kontrolblanding (n = antal prøver; $120 \mu\text{l}$ = mængden af intern kontrol-bærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) -blanding; $360 \mu\text{l}$ = porevolumen påkrævet pr. rør). For eksempel 12 prøver ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Fyld ikke røret med mere end 1,9 ml (dvs. maksimalt 12 prøver pr. rør). Hvis der skal behandles mere end 12 prøver, skal der anvendes flere rør, og det skal sikres, at porevolumen tilsættes pr. rør.

† Brug denne ligning til at beregne den påkrævede mængde intern kontrol-bærer-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) -blanding (n = antallet af prøver; $120 \mu\text{l}$ = mængde af intern kontrol-bærer RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) -blanding; $600 \mu\text{l}$ = porevolumen påkrævet pr. rør). For eksempel 96 prøver ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks for påkrævede oplysninger.

Sådan anvendes FIX-laboratorieudstyr

Anvendelse af væskeneveaudetektion (liquid-level detection, LLD) til prøveoverførsler gør det muligt at anvende primære og sekundære rør. Dette kræver imidlertid visse dødvolumener i de respektive rør. For at kunne minimere dødvolumener skal der anvendes sekundære rør uden væskeneveaudetektion. Der fås specifikt FIX-laboratorieudstyr (f.eks. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) som også kan vælges på berøringsskærmen på QIASymphony SP. Denne rør/racktype giver aspirationsbegrænsninger. Prøven aspireres ved en særlig højde i røret, der defineres af prøvemængden, der skal overføres. Derfor er det vigtigt at mængden, der angives på laboratorieudstyslisten anvendes. Laboratorieudstyslisterne kan downloades fra www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Prøverør, der kan anvendes med eller uden væskeneveaudetektion, og påkrævede prøvemængder, er også angivet på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Der må ikke anvendes mængder, der er større eller mindre end den påkrævede mængde, da dette kan føre til fejl under prøveklargøringen.

Rør til væskeneveaudetektion og rør, der ikke anvendes til væskeneveaudetektion, kan behandles i ét batch/én kørsel.

Klargøring af prøvemateriale

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes mere information i de tilhørende sikkerhedsdatablade (material safety data sheets, MSDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

Urin

Urin kan behandles uden yderligere forbehandling. Overfør prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (kat. nr. 72.693 eller 72.694), og anbring prøven i rørholderen. Alternativt kan der bruges primære rør. Det mindste påkrævede startvolumen kan variere, afhængigt af om det primære rør bruges. På www.qiagen.com/goto/dsphandbooks er der en liste med kompatible primære og sekundære rørformater, herunder det mindste påkrævede startvolumen til hver protokol. Systemet er optimeret til prøver med ren urin, der ikke indeholder konserveringsstoffer. For at øge sensitiviteten over for bakterielle patogener kan prøverne centrifugeres. Efter bortskaffelse af supernatanten kan peletten resuspenderes i mindst 500 µl Buffer ATL (ATL) (katalognr. 939016). Overfør prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (katalognr. 72.693 eller 72.694). Anbring prøven i rørholderen og behandl prøven vha. Complex400_V4_DSP-protokollen og det påkrævede FIX-laboratorieudstyr.

Isolation af genomisk DNA fra Gram-positive bakterier

DNA-oprensning kan forbedres ved nogle Gram-positive bakterier via enzymatisk forbehandling før prøven overføres til QIASymphony SP, og Complex400_V4_DSP-protokollen startes.

1. Dan piller af bakterier ved centrifugering ved 5000 x g i 10 minutter.
2. Suspendér bakteriepillen i 500 µl af den egnede enzymopløsning (20 mg/ml lysozym eller 200 µg/ml lysostaphin, 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100).
3. Inkubér ved 37 °C i mindst 30 minutter (± 2 minutter).
4. Centrifuger røret kortvarigt for at fjerne dråber fra lågets inderside.
5. Overfør prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (katalognr. 72.693 eller 72.694), anbring prøven i rørholderen og fortsæt med Complex400_V4_DSP-protokollen vha. det påkrævede FIX-laboratorieudstyr.

Viskøse eller mukøse prøver

Nogle prøver (f.eks. sputurm og respiratoriske aspirater) kan være viskøse og nødvendiggøre omdannelse til flydende tilstand for at de kan pipetteres. Lavviskøse prøver behøver ikke yderligere klargøring. Medium- til højviskøse prøver skal klargøres på følgende måde:

1. Opløs prøven 1:1 med Sputasol*† (Oxoid, katalognr. SR0233) eller 0,3 % (w/v) DTT.
Bemærk: Opløsningen med 0,3 % (w/v) DTT kan fremstilles på forhånd og opbevares i alikvoter ved -20 °C. Bortskaf optøede alikvoter efter brug.
2. Inkubér ved 37 °C, indtil prøvens viskositet er passende til pipettering.
3. Overfør mindst 500 µl af prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (katalognr. 72.693 eller 72.694). Behandl prøven ved hjælp af Complex400_V4_DSP-protokollen.

Tørrede podepinde med kropsvæske og sekret

1. Dyp den tørrede podepindspids i 750 µl Buffer ATL (ATL) (katalognr. 939016), og inkubér den ved 56 °C i 15 minutter (± 1 minut), med kontinuerlig blanding. Hvis blanding ikke er mulig, skal der vortexes før og efter inkuberingen i mindst 10 sekunder.
2. Fjern podepinden, og klem al væsken ud ved at trykke pinden mod indersiden af røret.
3. Overfør mindst 500 µl af prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (katalognr. 72.693 eller 72.694). Behandl prøven ved hjælp af Complex400_V4_DSP-protokollen.

* Sputasol (Oxoid, katalognr. SR0233, www.oxoid.com) eller diithiothreitol (DTT).

† Dette er ikke en fuldstændig liste over leverandører.

Bemærk: Denne protokol er optimeret til bomulds- eller polyethylenpinde. Ved anvendelse af andre pinde kan det muligvis være nødvendigt at tilpasse volumen af Buffer ATL (ATL) for at sikre, at mindst 500 µl er til rådighed som prøvemateriale.

Respiratoriske eller urogenitale podepinde opbevaret i transportmedier

Opbevaringsmedier til respiratoriske eller urogenitale podepinde kan bruges uden forbehandling. Hvis podepinden ikke er blevet fjernet, trykkes den mod siden af røret for at klemme væsken ud. Eventuelt overskydende slim i prøven skal fjernes på dette tidspunkt ved at indsamle det på podepinden. Eventuelt overskydende væske fra slimen og podepinden skal dernæst klemmes ud ved at trykke pinden mod siden af røret. Til sidst skal podepinden og slimen fjernes og bortskaffes. Hvis prøverne er viskøse, udføres et væskedannelsestrin (se "Viskøse eller mukøse prøver" ovenfor), inden prøven overføres til QIASymphony SP. Hvis der ikke er tilstrækkeligt startmateriale, pipetteres der Buffer ATL (ATL) ned i transportmediet for at justere den påkrævede, minimale startmængde og prøven vortexes i 15-30 sekunder i røret (hvis transportmediet indeholder podepinden, udføres dette trin, inden podepinden fjernes). Overfør prøven til et 2 ml Sarstedt-rør (katalognr. 72.693 eller 72.694), og anbring prøven i rørholderen. Alternativt kan der bruges primære rør. Det mindste påkrævede startvolumen kan variere, afhængigt af om det primære rør bruges. På www.qiagen.com/goto/dsphandbooks er der en liste med kompatible primære og sekundære rør, herunder det mindste påkrævede startvolumen til hver protokol.

Revisionshistorik

Revisionshistorik for dokumentet	
R2 12/2017	Opdatering til QIASymphony softwareversion 5.0

Vedrørende opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle håndbog eller brugervejledning til QIAGEN®-kittet. QIAGEN kit-håndbøger og -brugermanualer kan fås via www.qiagen.com eller kan rekvireres hos QIAGENS tekniske service eller den lokale distributør.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når disse ikke er specifikt markeret som sådan.
12/2017 HB-0301-S28-002 © 2017 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com