

Desember 2017

QIASymphony[®] SP protokollark

Complex400_OBL_V4_DSP-protokoll

Dette dokumentet er Complex400_OBL_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_OBL_V4_DSP
Standard analysekontrollsett	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
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	ikke relevant
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

n/a = ikke relevant.

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 ^{†‡}	96	96	128	128
Engangsfilterspisser, 1500 µl ^{†‡}	128	192	224	288
Prøveklargjøringskassetter [§]	18	36	54	72
8-stangdeksler [¶]	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.

[†] 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.

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. Complex400_OBL_V4_DSP-protokollen muliggjør manuell lysering som skal utføres på en lignende måte som for Complex400_V4_DSP-protokollen. Forhåndsbehandlede prøver overføres til QIAsymphony SP og behandles med Complex400_OBL_V4_DSP-protokollen.

Merk: Complex400_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 40 µl proteinase K, 165 µl buffer ATL (ATL), 120 µl bærer-RNA-internkontrollblanding og 315 µl buffer ACL i et 2 ml Sarstedt-rør (kat.nr. 72.693 eller 72.694).

Merk: Når mer enn én prøve skal behandles med manuell lysering, kan en stamløsning av denne løsningen klarlegges. 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 640 µl til et 2 ml Sarstedt-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 400 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.
7. 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 400 µl buffer ATL (ATL) (kat.nr. 939016). Bruk 400 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 Complex400_OBL_V4_DSP-protokollen startes.

1. Pelleter bakterier ved sentrifugering ved 5000 x g i 10 minutter.
2. Suspendeer bakteriepelleten i 400 µl egnet enzymløsning (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. Inkuber ved 37 °C i minst 30 minutter (± 2 minutter).
4. Sentrifuger røret kort for å fjerne dråper fra innsiden av lokket.
5. Bruk 400 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. Tinede alikvoter bør kastes etter bruk.
2. Inkuberer ved 37 °C til prøveviskositeten er egnet til pipettering.
3. Bruk 400 µl av det forhåndsbehandlede materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.

Tørket kroppsvæske og utsondringspinner

1. Neddykk den tørkede vattpinnen i 650 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 400 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 400 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. All resterende væske fra slimet og pinnen skal trykkes ut ved å trykke 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 400 µl av materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.

* Sputasol (Oxoid, kat.nr. SR0233, 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 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-S29-002 © 2017 QIAGEN. Med enerett.

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