

December 2017

QIASymphony[®] SP-protokolark

Complex200_OBL_V4_DSP-protokol

Dette dokument er *protokolarket* til *Complex200_OBL_V4_DSP QIASymphony SP, R2*, til QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit, version 1.

Generelle oplysninger

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

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Prøvemateriale	Respiratoriske og urogenitale prøver
Protokolnavn	Complex200_OBL_V4_DSP
StandardanalysekontROLSÆT	ACS_Complex200_OBL_V4_DSP
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	i/r
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

i/r = ikke relevant.

Skuffen "Waste" (affald)

Enhedsboksholder 1-4	Tomme enhedsbokse
Affaldsposeholder	Affaldspose
Væskeaffaldsflaskholder	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 ^{†‡}	96	96	128	128
Engangsfilterspidser, 1500 µl ^{†‡}	128	192	224	288
Prøveklargøringsbeholdere [§]	18	36	54	72
8-stavs dæksler [¶]	3	6	9	12

* Der skal bruges flere engangsfilterspidser, hvis der udføres mere end en indholdsscanning. Anvendelse af mindre end 24 prøver pr. batch reducerer antallet af engangspidser 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

* Elueringsvolumenen 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.

Lysis uden for instrumentet

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.

QIASymphony Complex-protokollerne består af 4 trin: lysis, binding, vask og eluering. Til nogle prøver er det nyttigt at udføre lysis manuelt, for eksempel til inaktivering af patogener i et biologisk sikkert skab. Complex200_OBL_V4_DSP-protokollen gør det muligt at udføre manuel lysis med en metode, der svarer til Complex200_V6_DSP-protokollen. Forbehandlede prøver overføres til QIASymphony SP og behandles med Complex200_OBL_V4_DSP.

Bemærk: Til Complex200_OBL_V4-protokollen er Buffer ACL og Buffer ATL (ATL) påkrævet. Buffer ACL (kat. nr. 939017) og Buffer ATL (ATL) (katalognr. 939016) er ikke en del af QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit og skal bestilles separat.

Manuel lysis

1. Pipetter 20 µl proteinase K, 100 µl Buffer ATL (ATL), 120 µl bærer-RNA intern kontrolblanding og 190 µl Buffer ACL ned i et 2 ml Sarstedt-rør (katalognr. 72,693 eller 72,694).

Bemærk: Når mere end én prøve behandles ved hjælp af manuel lysis, kan du klargøre en stamopløsning af denne opløsning. De volumener, der skal bruges til én prøve, ganges simpelthen op med det samlede antal prøver, der skal behandles, hvorefter yderligere volumen medtages svarende til 2 ekstra prøver. Vend røret flere gange for at blande indholdet, overfør 430 µl til et 2 ml Sarstedt-rør for hver prøve, og fortsæt med at udføre trin 4 for hver prøve.

2. Luk låget, og bland indholdet ved at vende bunden i vejret på røret 5 gange.
3. Centrifuger kortvarigt røret for at fjerne små dråber fra lågets inderside.
4. Tilsæt 200 µl prøve i røret, luk låget og bland ved puls-vortex i 10 sekunder.
5. Inkubér røret ved 68 °C i 15 minutter (± 1 minut).
6. Centrifuger kortvarigt røret for at fjerne små dråber fra lågets inderside.
7. Anbring indsatserne til de pågældende prøverør i en rørholder, og sæt prøverørene i (uden låg).

Klargøring af prøvemateriale

Urin

Urin kan behandles uden yderligere forbehandling. 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 200 µl Buffer ATL (ATL) (kat. nr. 939016). Brug 200 µl af det forbehandlede materiale som prøve til klargøring til lysis uden for instrumentet.

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 Complex200_OBL_V4_DSP-protokollen startes.

1. Dan piller af bakterier ved centrifugering ved 5000 x g i 10 minutter.
2. Suspendér bakteriepillen i 200 µl af den egnede enzymopløsning (20 mg/ml lysozym eller 200 µg/ml lysostaphin i 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. Brug 200 µl af det forbehandlede materiale som prøve til klargøring til lysis uden for instrumentet.

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 klagøres 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 dertil egnede alikvoter ved -20 °C. Bortskaf optøede alikvoter efter brug.
2. Inkubér ved 37 °C, indtil prøvens viskositet er passende til pipettering.
3. Brug 200 µl af det forbehandlede materiale som prøve til klagøring til lysis uden for instrumentet.

Tørrede podepinde med kropsvæske og sekret

1. Dyp den tørrede podepindspids i 450 µl Buffer ATL (ATL) (katalognr. 939016), og inkubér den ved 56 °C i 15 minutter (\pm 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. Brug 200 µl af det forbehandlede materiale som prøve til klagøring til lysis uden for instrumentet.
Bemærk: Denne protokol er optimeret til bomulds- eller polyethylenpinde. Ved anvendelse af andre pinde kan det være nødvendigt at tilpasse volumen af Buffer ATL (ATL) for at sikre, at mindst 200 µl er til rådighed som prøvemateriale.

Respiratoriske eller urogenitale podepinde

Opbevaringsmedier til respiratoriske eller urogenitale podepinde kan bruges uden forbehandling. Hvis podepinden ikke er blevet fjernet, trykkes den mod siden af røret for at trykke 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 trykkes 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

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

† Dette er ikke en fuldstændig liste over leverandører.

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). Brug 200 µl af materialet som prøve til klargøring til lysis uden for instrumentet.

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-S27-002 © 2017 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

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