

December 2017

# QIASymphony<sup>®</sup> SP-protokolark

## Complex800\_OBL\_V4\_DSP-protokol

Dette dokument er *protokolarket* til *Complex800\_OBL\_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.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
<b>Prøvemateriale</b>	Respiratoriske og urogenitale prøver
<b>Protokolnavn</b>	Complex800_OBL_V4_DSP
<b>StandardanalysekontROLSÆT</b>	ACS_Complex800_OBL_V4_DSP
<b>Redigerbar</b>	Elueringsvolumen: 60 µl, 85 µl, 110 µl
<b>Påkrævet softwareversion</b>	Version 4.0 eller højere

## Skuffen "Sample" (prøve)

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

## Skuffen "Reagents and Consumables" (reagenser og forbrugsartikler)

<b>Position A1 og/eller A2</b>	Reagensbeholder (Reagent cartridge, RC)
<b>Position B1</b>	i/r
<b>Spidsrackholder 1-17</b>	Engangsfilterspidser, 200 µl
<b>Spidsrackholder 1-17</b>	Engangsfilterspidser, 1500 µl
<b>Enhedsbokholder 1-4</b>	Enhedsbokse med prøveklargøringsbeholdere
<b>Enhedsbokholder 1-4</b>	Enhedsbokse med 8-stavs dæksler

i/r = ikke relevant.

## Skuffen "Waste" (affald)

<b>Enhedsbokholder 1-4</b>	Tomme enhedsbokse
<b>Affaldsposeholder</b>	Affaldspose
<b>Væskeaffaldsflaskeholder</b>	Væskeaffaldsflaske

## Skuffen "Eluate" (eluat)

Elueringsrack (vi anbefaler at anvende åbning 1, afkølingsposition)

Se [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) for at få flere oplysninger

## Påkrævede plastikprodukter

	<b>Et batch, 24 prøver*</b>	<b>To batches, 48 prøver*</b>	<b>Tre batches, 72 prøver*</b>	<b>Fire batches, 96 prøver*</b>
Engangsfilterspidser, 200 µl <sup>†‡</sup>	96	96	128	128
Engangsfilterspidser, 1500 µl <sup>†‡</sup>	128	192	224	288
Prøveklargøringsbeholdere <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-stavs dæksler <sup>¶</sup>	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 engangsspidser påkrævet pr. kørsel.

<sup>†</sup> Der er 32 filterspidser/spidsrack.

<sup>‡</sup> Antal nødvendige filterspidser indeholder filterspidser til 1 indholdsscanning pr. reagensbeholder.

<sup>§</sup> Der er 28 prøveklargøringsbeholdere/enhedsboks.

<sup>¶</sup> 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

<b>Valgt elueringsvolumen (µl)*</b>	<b>Initielt elueringsvolumen (µl)<sup>†</sup></b>
60	90
85	115
110	140

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

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

**Bemærk:** Værdierne, der vises i tabellen, er til klargøring 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. Complex800\_OBL\_V4\_DSP-protokollen gør det muligt at udføre manuel lysis med en metode, der svarer til Complex800\_V6\_DSP-protokollen. Forbehandlede prøver overføres til QIASymphony SP og behandles med Complex800\_OBL\_V4\_DSP-protokol.

**Bemærk:** Til Complex800\_OBL\_V4\_DSP-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 Midi Kit og skal bestilles separat.

### Manuel lysis

1. Pipetter 80 µl proteinase K, 295 µl Buffer ATL (ATL), 120 µl bærer-RNA intern kontrolblanding og 560 µl Buffer ACL ned i et 4,5 ml rør (Nunc CryoTube 12,5 x 92 mm, 4,5 ml rør af polypropylen, Nunc-katalognr. 363452).

**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 det til et 4,5 ml Sarstedt-rør til 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 800 µl prøve i røret, luk låget og bland ved puls-vortex i 10 sekunder.
5. Inkubér røret ved 68 °C i 15 minutter ( $\pm$  1 minut).
6. Centrifuger røret i kort tid for at fjerne små dråber fra lågets inderside. 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 800 µl Buffer ATL (ATL) (kat. nr. 939016). Brug 800 µl af det forbehandlede materiale som prøve til klarlægning 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 Complex800\_OBL\_V4\_DSP-protokollen startes.

1. Dan piller af bakterier ved centrifugering ved 5000 x g i 10 minutter.
2. Suspendér bakteriepillen i 800 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 ( $\pm$  2 minutter).
4. Centrifuger røret kortvarigt for at fjerne dråber fra lågets inderside.
5. Brug 800 µl af det forbehandlede materiale som prøve til klarlægning 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 klarlægning. Medium- til højviskøse prøver skal klarlægges 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. En optøet alikvot skal bortskaffes efter brug.
2. Inkubér ved 37 °C, indtil prøvens viskositet er passende til pipettering.
3. Brug 800 µl af det forbehandlede materiale som prøve til klargøring til lysis uden for instrumentet.

#### Tørrede podepinde med kropsvæske og sekret

1. Dyp den tørrede podepindspids i 1050 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. Brug 800 µl af det forbehandlede materiale som prøve til klargøring 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 800 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 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 QIAAsymphony 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). Brug 800 µl af materialet som prøve til klargøring til lysis uden for instrumentet.

\* Sputasol (Oxoid, katalognr. SR0233, [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com)) eller diithiothreitol (DTT).

† Dette er ikke en fuldstændig liste over leverandører.

## 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](http://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-S31-002 © 2017 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdes.

---

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