

December 2017

QIASymphony[®] SP-protokollblad

Complex400_V4_DSP-protokoll

Detta dokument är Complex400_V4_DSP QIASymphony SP:s protokollblad R2, för QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, version 1.

Allmän information

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit är avsett för in vitro-diagnostisk.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Provmaterial	Respiratoriska och urogenitala prover
Protokollnamn	Complex400_V4_DSP
Förvald analyskontrolluppsättning	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Redigerbar	Eluatvolym: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller senare

Lådan "Sample" (Prov)

Provtyp	Respiratoriska prover (BAL, torkade svabbar, transportmedier, aspirat, sputum) och urogenitala prover (urin, transportmedier)
Provolym	Beror på vilken typ av provrör som används, se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information
Primära provrör	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information
Sekundära provrör	Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information
Insatser	Beror på vilken typ av provrör som används, se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information
Övrigt	Blandning av bärar-RNA-AVE-buffert krävs, användning av intern kontroll är frivillig

Lådan "Reagents and Consumables" (Reagens och förbrukningsmaterial)

Position A1 och/eller A2	Reagenskasset (RC)
Position B1	ATL-buffert (ATL)
Spetsrackhållare 1-17	Engångsfilterspetsar, 200 µl
Spetsrackhållare 1-17	Engångsfilterspetsar, 1 500 µl
Hållare för enhetslådor 1-4	Enhetslådor innehållande provberedningskassetter
Hållare för enhetslådor 1-4	Enhetslådor innehållande 8-stavsskydd

Lådan "Waste" (Avfall)

Hållare för enhetslådor 1-4	Tomma enhetslådor
Avfallspåshållare	Avfallspåse
Hållare för flaska för flytande avfall	Flaska för flytande avfall

Lådan "Eluate" (Eluat)

Elueringsställ (vi rekommenderar att uttag 1, kylpositionen, används)

Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information

Erforderliga plastartiklar

	En batch, 24 prover*	Två batcher, 48 prover*	Tre batcher, 72 prover*	Fyra batcher, 96 prover*
Engångsfilterspetsar, 200 µl†‡	34	60	86	112
Engångsfilterspetsar, 1500 µl†‡	123	205	295	385
Provprepareringskassetter §	18	36	54	72
8-stavsskydd¶	3	6	9	12

* Om fler än en kontroll per batch används och fler än ett inventerande skan utförs krävs extra engångsfilterspetsar. Om färre än 24 prover per batch används minskar det antal engångsfilterspetsar som krävs per körning.

† Det finns 32 filterspetsar/spetsställ.

‡ Antalet filterspetsar som krävs inbegriper filterspetsar för 1 inventarieskanning per reagenskasset.

§ Det finns 28 provprepareringskassetter/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-stavsskydd/enhetslåda.

Obs! Givet antal filterspetsar kan skilja sig från det antal som visas på pekskärmen beroende på inställningarna, till exempel det antal interna kontroller som används per batch.

Vald elueringsvolym

Vald elueringsvolym (µl)*	Första elueringsvolym (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Den elueringsvolym som valts på pekskärmen. Detta är den minsta eluatvolym som är tillgänglig i det slutliga elueringsröret.

† Den initiala volym elueringslösning som krävs för att säkerställa att den faktiska eluatvolymen är densamma som den valda volymen.

Förberedelse av bärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandningar för intern kontroll

Vald elueringsvolym (µl)	Volym stam-bärar-RNA (BÄRARE) (µl)	Volym intern kontroll (µl)*	Volym AVE-buffert (AVE) (µl)	Slutlig volym per prov (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Beräkningen av mängden intern kontroll är baserad på de initiala elueringsvolymerna. Tillkommande tom volym beror på vilken typ av provrör som används, se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för mer information.

Obs! De värden som visas i tabellen är för beredning av intern kontroll-bärar-RNA-blandning (BÄRARE) för en nedströms analys som kräver 0,1 µl intern kontroll/µl eluat.

Rör som innehåller bärar-RNA (CARRIER)-buffert-AVE (AVE)-blandningar för intern kontroll är placerade i en provrörshållare. Den provrörshållare som innehåller bärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandning(arna) för intern kontroll måste placeras i provlådans skåra A.

Beroende på hur många prover som ska analyseras rekommenderar vi att 2 ml provrör (Sarstedt, kat.nr. 72.693 eller 72.694) eller 14 ml 17 x 100 mm provrör av polystyren med rund botten (Becton Dickinson, kat.nr. 352051) används för spädning av den interna kontrollen enligt beskrivningen i tabellen nedan. Volymen kan delas upp i 2 eller fler provrör.

Beräkna volymen på den interna kontrollblandningen

Typ av provrör	Namn på QIASymphonys pekskärm	Beräkning av volymen bärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandningar för intern kontroll per provrör
Mikrorör 2 ml med lock, mikrorör 2 ml, PP, MED KRAGE (Sarstedt, kat.nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikrorör 2 ml med lock, mikrorör 2 ml, PP, UTAN KRAGE (Sarstedt, kat.nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Provrör av polystyren, 14 ml, 17 x 100 mm, med rund botten (Becton Dickinson, kat.nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

*Använd denna ekvation för att beräkna erforderlig volym av intern kontrollblandning (n = antalet prover, 120 µl = volym bärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandning för intern kontroll, 360 µl = tom volym som krävs per provrör). Exempelvis, för 12 prover (n = 12): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Fyll inte provröret med mer än 1,9 ml (dvs. max 12 prover per provrör). Om mer än 12 prover ska köras ska du använda fler provrör och se till att den tomma volymen läggs till för varje provrör.

† Använd denna ekvation för att beräkna erforderlig volym av bärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandning för intern kontroll, (n = antalet prover, 120 µl = volym bärar-RNA (CARRIER)-buffert AVE (AVE)-blandning, 600 µl = tom volym som krävs per provrör). Exempelvis, för 96 prover (n = 96): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

Se www.qiagen.com/goto/dsphandbooks för erforderliga insatser.

Att använda FIX labbmateriel

Genom att använda detektion av vätskenivå (liquid-level detection, LLD) vid provöverföringen kan primära och sekundära provrör användas. Detta kräver emellertid vissa dödvolymer i varje provrör. För att minimera dödvolymer ska sekundära provrör användas utan detektion av vätskenivå. Det finns särskilt FIX labbmateriel (t.ex. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) som också kan väljas på pekskärmen på QIASymphony SP. Denna typ av provrör/provrörsställ innebär aspirationsrestriktioner. Provet aspireras vid en viss höjd i provröret som definieras av den volym prov som ska överföras. Därför är det mycket viktigt att se till att de volymer som anges i labbmateriellistan används. Labbmateriellistor kan laddas ned från www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

De provrör som kan användas med och utan detektion av vätskenivå samt erforderliga provvolymer anges även i www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Använd inte volymer som är större eller mindre än erforderlig volym, eftersom detta kan leda till fel under provberedningen.

Provrör avsedda för detektion av vätskenivå samt provrör som inte är avsedda för detektion av vätskenivå kan köras i en och samma batch/körning.

Förberedelse av provmaterial

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Om du vill ha mer information hänvisas till tillämpliga materialsäkerhetsdatablad (MSDS) som kan erhållas från produktleverantören.

Urin

Urin kan bearbetas utan ytterligare förbehandling. Överför provet till ett 2 ml Sarstedt-provrör (kat.nr. 72.693 eller 72.694) och placera provet i provrörshållaren. Alternativt kan primära provrör användas. Erforderlig minsta startvolym kan variera beroende på vilket primärt provrör som används. En lista över kompatibla primära och sekundära provrörsformat, inklusive minsta startvolym som erfordras för respektive protokoll, finns på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Systemet är optimerat för rena urinprover som inte innehåller konserveringsmedel. För att öka känsligheten för bakteriella patogener kan proverna centrifugeras. Efter kassering av supernatanten kan pelleten resuspenderas i minst 500 µl buffert-ATL (ATL) (kat.nr. 939016). Överför provet till ett 2 ml Sarstedt-provrör (kat.nr. 72.693 eller 72.694). Placera provet i provrörshållaren och bearbeta provet med protokollet Complex400_V4_DSP samt erforderligt FIX labbmateriel.

Isolering av genomt DNA från grampositiva bakterier

DNA-reningen kan förbättras för vissa grampositiva bakterier genom enzymatisk förbehandling innan provet överförs till QIASymphony SP och protokollet Complex400_V4_DSP startas.

1. Låt bakterierna bilda en pellet genom centrifugering vid 5000 x g i 10 minuter.
2. Suspendera bakteriepelleten i 500 µl av lämplig enzymlösning (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. Inkubera vid 37 °C i minst 30 minuter (± 2 minuter).
4. Centrifugera provröret som hastigast för att avlägsna droppar från lockets insida.
5. Överför provet till ett 2 ml Sarstedt-provrör (kat.nr. 72.693 eller 72.694), placera provet i provrörshållaren och fortsätt med Complex400_V4_DSP-protokollet med användning av erforderligt FIX-labbmaterial.

Viskösa eller mukösa prover

Vissa prover (exempelvis sputum, respiratoriska aspirat) kan vara viskösa och behöva omvandlas till vätska för att möjliggöra pipettering. Prover med låg viskositet kräver ingen ytterligare preparering. Prover med medelhög till hög viskositet ska beredas på följande sätt:

1. Späd provet 1:1 med Sputasol*† (Oxoid, kat.nr. SR0233) eller 0,3 % (w/v) DTT.
Obs! 0,3 % (w/v) DTT-lösningen kan iordningställas i förväg och förvaras i alikvoter vid – 20°C. Kassera tinade alikvoter efter användning.
2. Inkubera vid 37 °C tills provets viskositet är lämplig för pipettering.
3. Överför minst 500 µl av provet till ett 2 ml Sarstedt-provrör (kat.nr. 72.693 eller 72.694). Bearbeta provet med användning av Complex400_V4_DSP-protokollet.

Torkade svabbar med kroppsvätskor och sekret

1. Blötlägg den torkade svabbspetsen i 750 µl ATL-buffert (kat.nr. 939016) och inkubera vid 56 °C i 15 min (± 1 minut), med oavbruten omrörning. Om omrörning inte är möjlig ska du använda vortex i minst 10 s före och efter inkuberingen.
2. Avlägsna svabben och pressa ut all vätska genom att trycka svabben mot provrörets insida.
3. Överför minst 500 µl av provet till ett 2 ml Sarstedt-provrör (kat.nr. 72.693 eller 72.694). Bearbeta provet med användning av Complex400_V4_DSP-protokollet.

* Sputasol (Oxoid, kat.nr. SR0233, www.oxoid.com) eller ditiotreitol (DTT).

† Detta är inte en fullständig lista över leverantörer.

Obs! Detta protokoll är optimerat för svabbar av bomull eller polyetylen. Om andra svabbar används kan mängden ATL-buffert behöva justeras för att säkerställa att minst 500 µl blir tillgängligt som provmaterial.

Respiratoriska och urogenitala svabbar lagrade i transportmedia

Lagringsmedia för respiratoriska och urogenitala svabbar kan användas utan förbehandling. Om svabben inte har avlägsnats ska den tryckas mot provrörets insida för att pressa ut vätskan. Eventuella rester av mukus i provet ska avlägsnas vid denna punkt genom att samla upp dem på svabben. Eventuell kvarstående vätska från mukus och svabben ska därefter pressas ut genom att trycka svabben mot provrörets insida. Slutligen ska svabben och mukus avlägsnas och kasseras. Om proverna är viskösa måste de omvandlas till vätska (se "Viskösa och mukösa prover" ovan) innan provet överförs till QIASymphony SP. Om det inte finns tillräckligt med startmaterial ska ATL-buffert pipetteras till transportmediet för att justera erforderlig minsta startvolym och provet köras i vortex i 15–30 sekunder i provröret (om transportmediet innehåller svabben ska detta steg utföras innan svabben avlägsnas). Överför provet till ett 2 ml Sarstedt-provrör (kat.nr. 72.693 eller 72.694) och placera provet i provrörshållaren. Alternativt kan primära provrör användas. Erforderlig minsta startvolym kan variera beroende på vilket primärt provrör som används. En lista över kompatibla primära och sekundära provrör, inklusive minsta startvolym som erfordras för respektive protokoll, finns på www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Revisionshistorik

Dokumentrevisioner	
R2 12/2017	Uppdatering för QIASymphony Software version 5.0

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i handboken eller bruksanvisningen för respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGENS tekniska support eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN-gruppen). Registrerade namn, varumärken etc. som används i det här dokumentet ska inte anses som oskyddade enligt lag även om de inte uttryckligen anges som skyddade.
12/2017 HB-0301-S28-002 © 2017 QIAGEN, med ensamrätt.

Beställning www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Webbplats www.qiagen.com