

Bruksanvisning for QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Kit (protokollskjema)

Complex800_OBL_V4_DSP-protokoll

Versjon 2



Til in vitro-diagnostisk bruk

Til bruk med QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit



REF

937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1

Protokollskjemaet er tilgjengelig elektronisk og ligger under fanen for ressurser på produktsiden til www.qiagen.com.

Generell informasjon

QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit er beregnet for bruk i in vitro-diagnostikk.

Sett	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Prøvemateriale	Respiratoriske og urogenitale prøver
Protokollnavn	Complex800_OBL_V4_DSP
Standard analysekontrollsett	ACS_Complex800_OBL_V4_DSP
Redigerbar	Eluatvolum: 60, 85 og 110 µl
Nødvendig programvareversjon	Versjon 4.0 eller høyere
Nødvendig programvarekonfigurasjon for IVD-bruk	Standardprofil 1

Skuffen «Sample» (Prøve)

Prøvetype	Urin, urogenitale vattpinner (i transportmedium, f.eks. PreservCyt®, UTM, eNAT™) og vattpinner til respirasjonssystem (tørkede vattpinner eller i transportmedium, f.eks. UTM, eNAT)
Prøvevolum	Avhenger av hvilket prøverør som er brukt. Du finner mer informasjon i listen over laboratorieutstyr under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com .
Behandlet prøvevolum	Se listen over laboratorieutstyr under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com for mer informasjon.
Primære prøverør	Se listen over laboratorieutstyr under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com for mer informasjon.
Sekundære prøverør	Avhenger av hvilket prøverør som er brukt. Du finner mer informasjon i listen over laboratorieutstyr under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com .
Innlegg	Avhenger av hvilket prøverør som er brukt. Du finner mer informasjon i listen over laboratorieutstyr under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com .
Annet	Krever bærer-RNA-Buffer AVE-blanding. Bruk av intern kontroll er valgfritt

Skuffen «Reagents and Consumables» (Reagenser og forbruksvarer)

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
Enhetsbokholder 1–4	Enhetsbokser som inneholder prøveklargjøringskassetter
Enhetsbokholder 1–4	Enhetsbokser som inneholder 8-Rod Covers

n/a = ikke relevant.

Skuffen «Waste» (Avfall)

Enhetsbokholder 1–4	Tomme enhetsbokser
Avfallsposeholder	Avfallspose
Holder for væskeavfallsflaske	Væskeavfallsflaske

Skuffen «Eluate» (Eluat)

Elusjonsstativ (vi anbefaler bruk av åpning 1, nedkjølingsposisjon)

Du finner mer informasjon i listen over laboratoriestyr under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com.

Nødvendige plastdeler

Plastdeler	Ett parti 24 prøver*	To partier 48 prøver*	Tre partier 72 prøver*	Fire partier 96 prøver*
Disposable filter-tips, 200 µl [†]	96	96	128	128
Disposable filter-tips, 1500 µl [†]	128	192	224	288
Sample prep cartridges [‡]	18	36	54	72
8-Rod Covers [§]	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 nødvendige filterspisser inkluderer filterspisser for 1 inventarskanning per reagenskasset (Reagent Cartridge, RC).

[§] Det finnes 28 prøveklargjøringskassetter/enhetsboks.

[¶] Det finnes tolv 8-Rod Covers/enhetsboks.

Merk: Antall angitte filterspisser kan avvike fra antallene vist på berøringsskjermen avhengig av innstillinger. Vi anbefaler å laste maksimalt antall mulig spisser.

Valgt elusjonsvolum

Valgt elusjonsvolum (µl)*	Innledende elusjonsvolum (µl) [†]
60	90
85	115
110	140

* Elusjonsvolumet valgt på berøringsskjermen. Dette er minimumsvolumet av tilgjengelig eluat i det endelige elusjonsrøret.

[†] Det innledende volumet av elusjonsløsning 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 elusjonsvolum (µl)	Volum stamme bærer-RNA (CARRIER) (µl)	Volum intern kontroll (µl)*	Volum Buffer 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 intern kontroll er basert på de innledende elusjonsvolumene. Ytterligere dødvolum avhenger av typen prøverør som brukes. Se i listen over laboratoriestyr under fanen for ressurser på produksiden til www.qiagen.com for mer informasjon.

Merk: Verdiene i tabellen er for klargjøring av intern kontroll–bærer-RNA (CARRIER)-blanding for en nedstrømsanalyse som krever 0,1 µl intern kontroll/µl eluat.

Ekstern lysering

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (safety data sheet, SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

QIASymphony Complex-protokoller består av 4 trinn: lysere, binde, vaske og eluere. For noen prøver er det nyttig å utføre lysering manuelt, for eksempel ved inaktivering av patogener i et biosikkerhetsskap. Complex800_OBL_V4_DSP-protokollen muliggjør manuell lysering som skal utføres på en lignende måte som for Complex800_V6_DSP-protokollen. Forhåndsbehandlede prøver overføres til QIASymphony SP og behandles med Complex800_OBL_V4_DSP-protokollen.

Merk: Complex800_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 80 µl proteinase K, 295 µl Buffer ATL (ATL), 120 µl bærer-RNA-intern kontrollblanding og 560 µl Buffer ACL i et 4,5 ml rør (Nunc® kryorør 12,5 x 92 mm, 4,5 ml polypropylenrør, Nunc kat.nr. 363452).

Merk: Når mer enn én prøve skal behandles med manuell lysering, kan en stamløsning av denne løsningen klargjøres. 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 1055 µl til et 4,5 ml 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 800 µl prøve til røret, sett på lokket og bland grundig med pulsvorteksblending i 10 sekunder.
5. Inkuber røret ved 68 °C i 15 minutter.
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

Forhindre dannelse av skum i eller på prøvene. Avhengig av startmaterialet kan det være nødvendig å forhåndsbehandle prøvene. Prøver skal romtempereres (15–25 °C) før kjøringen startes.

Merk: Prøvestabilitet avhenger i stor grad av ulike faktorer og er relatert til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Det er fastsatt for QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Det er brukerens ansvar å sjekke i bruksanvisningen hvilken spesifikk nedstrømsapplikasjon som skal brukes i laboratoriet, og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å etablere egnede oppbevaringsforhold.

Når det gjelder generell prøvetaking, transport og oppbevaring, kan du se i den godkjente CLSI-retningslinjen MM13-A om «prøvetaking, transport, klargjøring og oppbevaring av prøver for molekylære metoder». I tillegg må produsentens instruksjoner for valgt prøvetakingsutstyr/sett følges under prøveklargjøring, oppbevaring, transport og generell håndtering.

Urin

Urin kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 6 timer. Ved oppbevaring over lengre tid anbefaler vi frysing ved –20 °C eller –80 °C. Urin kan behandles uten ytterligere 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 800 µl Buffer ATL (ATL) (kat.nr. 939016). Bruk 800 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 QIA Symphony SP og Complex800_OBL_V4_DSP-protokollen startes.

1. Pelleter bakterier ved sentrifugering ved 5000 x g i 10 min.
2. Suspendeer bakteriepelleten i 800 µl egnet enzymløsning (20 mg/ml lysozym eller 200 µg/ml lysostafin; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % Triton X-100).
3. Inkuber ved 37 °C i minst 30 minutter.
4. Sentrifuger røret kort for å fjerne dråper fra innsiden av lokket.
5. Bruk 800 µl av det forhåndsbehandlede materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.

Viskøse prøver eller slimprøver

Noen prøver 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 0,3 % (w/v) ditiotreitol (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 800 µl av det forhåndsbehandlede materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.

Tørket kroppsvæske og utsondringspinner

1. Legg den tørkede vattpinnen i 1050 µl Buffer ATL (ATL) (kat.nr. 939016), og inkuber ved 56 °C i 15 minutter med kontinuerlig blanding. Hvis blanding ikke er mulig, må du rotere 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 800 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 800 µl er tilgjengelig som prøvemateriale.

Respiratoriske eller urogenitale pinner

Urogenitale vattpinner (i transportmedier, f.eks. PreservCyt, UTM, eNAT) og vattpinner til respirasjonssystem (tørkede vattpinner eller i transportmedium, f.eks. UTM, eNAT) kan oppbevares ved 2–8 °C i opptil 6 timer. For lengre oppbevaring anbefaler vi frysing ved –20 °C eller –80 °C.

Lagingsmedier 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 avsnittet «Viskøse prøver eller slimprøver» over) 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 800 µl av materialet som prøve for klargjøring av den eksterne lyseringen.

Begrensninger og interfererende stoffer

Ingen signifikant negativ påvirkning av potensielt interfererende stoffer ble observert (se mer informasjon i dokumentet Ytelseegenskaper som finnes under fanen for ressurser på produksiden på www.qiagen.com).

Merk: Testing ble utført sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner for å vurdere kvaliteten på de ekstraherte nukleinsyrene. Ulike nedstrømsapplikasjoner kan imidlertid ha forskjellige krav med hensyn til renhet (dvs. fravær av potensielt interfererende stoffer), slik at identifisering og testing av relevante stoffer også må etableres som en del av nedstrømsapplikasjonsutviklingen for enhver arbeidsflyt som omfatter QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.





Lagring av eluater

Merk: Eluatets stabilitet avhenger i stor grad av ulike faktorer og er relatert til den spesifikke nedstrømsapplikasjonen. Det er fastsatt for QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit sammen med eksempler på nedstrømsapplikasjoner. Det er brukerens ansvar å sjekke i bruksanvisningen hvilken spesifikk nedstrømsapplikasjon som skal brukes i laboratoriet, og/eller godkjenne hele arbeidsflyten for å etablere egnede oppbevaringsforhold.

For kortsiktig oppbevaring på opptil 24 timer, anbefaler vi å oppbevare rensede nukleinsyrer ved 2–8 °C. For langsiktig oppbevaring på over 24 timer, anbefaler vi at oppbevaringen skjer ved –20 °C.

Symboler

Følgende symboler er angitt i dette dokumentet. Se i håndboken hvis du ønsker en fullstendig liste over symboler brukt i bruksanvisningen eller på emballasjen og merkingen.

Symbol	Symboldefinisjon
	Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter.
	In vitro-diagnostisk medisinsk enhet
	Katalognummer
Rn	R står for revisjon av bruksanvisningen, og n står for revisjonsnummeret
	Produsent

Endringshistorikk

Revisjon	Beskrivelse
R1, juni 2022	Versjon 2, revisjon 1 <ul style="list-style-type: none">• Oppdatering til versjon 2 for samsvar med IVDR• Forlengelse av avsnitt Klargjøring av prøvematerialer• Tillegg av avsnitt Begrensninger og interfererende stoffer• Tillegg av avsnitt Lagring av eluater• Tillegg av avsnitt Symboler

Du finner oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser i den aktuelle håndboken eller brukerhåndboken til QIAGEN® Kit. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN Kit er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENS tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); Nunc® (Thermo Fisher Scientific eller datterselskaper); PreservCyt® (Hologic, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.
06/2022 HB-3028-S06-001 © 2022 QIAGEN. Med enerett.