

Bruksanvisning (protokollblad) till QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit

Complex200_OBL_V4_DSP-protokoll

Version 2

IVD

För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit

CE

REF

937036



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland

R1 Protokollbladet är tillgängligt elektroniskt och finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com.

Allmän information

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

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Provmaterial	Respiratoriska och urogenitala prover
Protokollnamn	Complex200_OBL_V4_DSP
Förvald analyskontrolluppsättning	ACS_Complex200_OBL_V4_DSP
Redigerbar	Eluatvolym: 60, 85 och 110 µl
Nödvändig programversion	Version 4.0 eller senare
Nödvändig programvarukonfiguration för IVD-användning	Default profile 1 (standardprofil 1)

Lådan "Sample" (prov)

Provtyp	Urin, urogenitala svabbar (i transportmedia, t.ex. PreservCyt®, UTM, eNAT™) och luftvägssvabbar (torkade svabbar eller i transportmedia, t.ex. UTM, eNAT)
Provvolyml	Beror på vilken typ av provrör som används. Mer information finns i labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com .
Bearbetad provvolym	Se labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com .
Primära provrör	Se labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com .
Sekundära provrör	Beror på vilken typ av provrör som används. Mer information finns i labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com .
Insatser	Beror på vilken typ av provrör som används. Mer information finns i labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com .
Annat	Blandning av bärar-RNA-Buffer AVE krävs, användning av intern kontroll är frivillig

Lådan "Reagents and Consumables" (reagens och förbrukningsmaterial)

Position A1 och/eller A2	Reagenskasset (RC)
Position B1	Ej relevant
Spetsrackhållare 1-17	Engångsfilterspetsar, 200 µl
Spetsrackhållare 1-17	Engångsfilterspetsar, 1500 µl
Hållare för enhetslådor 1-4	Enhetslådor innehållande provberedningskassetter
Hållare för enhetslådor 1-4	Enhetslådor innehållande 8-Rod Covers

n/a = ej relevant.

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)

Mer information finns i labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com.

Erforderliga plastartiklar

Plastartiklar	En sats 24 prover*	Två satser 48 prover*	Tre satser 72 prover*	Fyra satser 96 prover*
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

* Om du utför mer än en inventarieskanning krävs det 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 provberedningskassetter/enhetslåda.

¶ Det finns tolv 8-Rod Covers/enhetslåda.

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

Vald elueringsvolym

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

* Den elueringsvolym som valts på pekskärmen. Detta är den minsta elueringsvolym 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.

Preparering av bärar-RNA (CARRIER)-Buffer AVE (AVE)-blandningar för intern kontroll

Vald elueringsvolym (µl)	Volym stam-bärar-RNA (CARRIER) (µl)	Volym intern kontroll (µl)*	Volym Buffer AVE (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. Ytterligare tomrumsvolym beror på vilken typ av provrör som används. Se labbmateriellistan, som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com för mer information.

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

Extern lysering

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) som kan erhållas av respektive tillverkare.

QIASymphony Complex-protokollen består av 4 steg: lysering, bindning, tvätt, eluering. För vissa prover är det användbart att utföra lysering manuellt, till exempel för inaktivering av patogener i ett biosäkerhetsskåp. Complex200_OBL_V4_DSP-protokollet möjliggör utförande av manuell lysering på ett liknande sätt som för Complex200_V6_DSP-protokollet. Förbehandlade prover överförs till QIASymphony SP och bearbetas med Complex200_OBL_V4_DSP.

Obs! Complex200_OBL_V4-protokollet kräver Buffer ACL och Buffer ATL (ATL). Buffer ACL (kat.nr. 939017) och Buffer ATL (ATL) (kat.nr. 939016) är inte en del av QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit och måste beställas separat.

Manuell lysering

1. Pipettera 20 µl proteinas K, 100 µl Buffer ATL (ATL), 120 µl bärar-RNA intern kontrollblandning och 190 µl Buffer ACL i ett 2 ml Sarstedt®-provör (kat.nr. 72.693 eller 72.694).

OBS! När fler än ett prov kommer att bearbetas med manuell lysering kan en stamlösning av denna lösning beredas. Multiplicera bara volymerna som krävs för ett prov med det totala antalet prover som ska bearbetas och inkludera ytterligare volym till motsvarande 2 extra prover. Vänd provröret flera gånger för att blanda, överför 430 µl till ett 2 ml Sarstedt-provrör för varje prov och fortsätt sedan för varje prov med steg 4.

2. Stäng locket och blanda försiktigt genom att vända röret 5 gånger.
3. Centrifugera provröret som hastigast för att avlägsna droppar från lockets insida.
4. Tillsätt 200 µl prov till provröret, stäng locket och blanda genom puls-vortexblandning i 10 sekunder.
5. Inkubera röret vid 68 °C i 15 min.
6. Centrifugera provröret som hastigast för att avlägsna droppar från lockets insida.
7. Placera insatserna för de lämpliga provrören i en provrörshållare och sätt in provrören (utan lock).

Förberedelse av provmaterial

Undvik skumbildning i eller på proven. Proverna kan behöva förbehandlas, beroende på startmaterialet. Prover måste uppnå rumstemperatur (15–25 °C) innan du startar körningen.

OBS! Provets stabilitet beror i hög grad på olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Den har fastställts för QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits i kombination med exemplariska nedströmsapplikationer. Det är användarens ansvar att konsultera bruksanvisningen för den specifika nedströmsapplikation som används i deras laboratorium och/eller validera hela arbetsflödet för att fastställa lämpliga lagringsförhållanden.

För allmänna rekommendationer för insamling, transport och lagring, se den godkända CLSI-riktlinjen MM13-A "Insamling, transport, förberedelse och lagring av prover för molekylära metoder". Dessutom ska tillverkarens instruktioner för den valda provtagningsanordningen/-satsen följas under provberedning, lagring, transport och allmän hantering.

Urin

Urin kan förvaras i 2–8 °C i upp till 6 timmar. För längre förvaring rekommenderar vi frysning vid -20 °C eller -80 °C. Urin kan bearbetas utan ytterligare förbehandling. 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 200 µl Buffer ATL (ATL) (kat.nr. 939016). Använd 200 µl av det förbehandlade materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.

Isolering av genom DNA från grampositiva bakterier

DNA-reningen kan förbättras för vissa grampositiva bakterier genom enzymatisk förbehandling innan provet överförs till QIAasympy SP och protokollet Complex200_OBL_V4_DSP startas.

1. Låt bakterierna bilda en pellet genom centrifugering vid 5000 x g i 10 minuter.
2. Suspendera bakteriepelleten i 200 µl av lämplig enzymlösning (20 mg/ml lysozyme eller 200 µg/ml lysostafin; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % Triton X-100).
3. Inkubera vid 37 °C i minst 30 min.
4. Centrifugera provröret som hastigast för att avlägsna droppar från lockets insida.
5. Använd 200 µl av det förbehandlade materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.

Viskösa eller mukösa prover

Vissa prover 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 0,3 % (vikt/volym) ditiotreitoll (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. Använd 200 µl av det förbehandlade materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.

Torkade svabbar med kroppsvätskor och sekret

1. Blötlägg den torkade svabbspetsen i 450 µl Buffer ATL (ATL) (kat. nr. 939016) och inkubera vid 56 °C i 15 min, 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. Använd 200 µl av det förbehandlade materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.
Obs! Detta protokoll är optimerat för svabbar av bomull eller polyetylen. Om andra svabbar används kan mängden Buffer ATL (ATL) behöva justeras för att säkerställa att minst 200 µl blir tillgängligt som provmaterial.

Respiratoriska och urogenitala svabbar

Urogenitala svabbar (i transportmedia, t.ex. PreservCyt, UTM, eNAT) och luftvägssvabbar (torkade svabbar eller i transportmedia, t.ex. UTM, eNAT) kan förvaras vid 2–8 °C i upp till 6 timmar. För längre förvaring rekommenderar vi frysning vid -20 °C eller -80 °C.

Lagringsmedia för respiratoriska och urogenitala svabbar kan användas utan förbehandling. Om svabben inte har avlägsnats ska den tryckas mot provrörets insida för att driva 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 avsnittet "Viskösa eller mukösa prover" ovan) innan provet överförs till QIASymphony SP. Om det inte finns tillräckligt med startmaterial ska Buffer ATL (ATL) 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). Använd 200 µl av materialet som prov för beredning av den externa lyseringen.

Begränsningar och interfererande ämnen

Ingen signifikant negativ påverkan av potentiellt interfererande ämnen har observerats (för detaljer se det tillämpliga dokumentet med prestandaegenskaper som finns på resursfliken på produktsidan på www.qiagen.com).

OBS! Testning gjordes med användning av exemplariska nedströmsapplikationer för en bedömning av kvaliteten på de extraherade nukleinsyror. Olika nedströmsapplikationer kan dock ha olika krav med avseende på renhet (d.v.s. frånvaro av potentiellt interfererande ämnen), så identifiering och testning av relevanta substanser måste också fastställas som en del av nedströmsapplikationsutvecklingen för alla arbetsflöden som involverar QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.






Förvaring av eluat

OBS! Eluatets stabilitet beror i hög grad på olika faktorer och relaterar till den specifika nedströmsapplikationen. Den har fastställts för QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits i kombination med exemplariska nedströmsapplikationer. Det är användarens ansvar att konsultera bruksanvisningen för den specifika nedströmsapplikation som används i deras laboratorium och/eller validera hela arbetsflödet för att fastställa lämpliga lagringsförhållanden.

För korttidsförvaring upp till 24 timmar rekommenderar vi att renade nukleinsyror förvaras vid 2–8 °C. För långtidsförvaring över 24 timmar rekommenderar vi förvaring vid -20 °C.

Symboler

Följande symboler förekommer i detta dokument. För en fullständig lista över symboler som används i bruksanvisningen eller på förpackningen och märkningen, se handboken.

Symbol	Symbolförklaring
	Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
	Katalognummer
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Temperaturbegränsning
	Tillverkare

Revisionshistorik

Revision	Beskrivning
R1, juni 2022	<p>Version 2, revision 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Uppdatera till version 2 för överensstämmelse med IVDR• Utökning av avsnitt Förberedelse av provmaterial• Tillägg av avsnitt Begränsningar och interfererande ämnen• Tillägg av avsnitt Förvaring av eluat• Tillägg av avsnitt Symboler

Aktuell licensinformation och produktspecifika ansvarsfriskrivningar finns i handboken eller bruksanvisningen till respektive QIAGEN®-kit. Handböcker och bruksanvisningar till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN tekniska service eller din lokala återförsäljare.

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); PreservCyf® (Hologic, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrerade namn, varumärken med mera som används i detta dokument ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.
06/2022 HB-3028-S02-001 © 2022 QIAGEN, med ensamrätt.