

Φύλλο πρωτοκόλλου QIAAsymphony SP

Πρωτόκολλο Complex400 OBL_V4_DSP

Γενικές πληροφορίες

Για διαγνωστική χρήση in vitro.

Κιτ	QIAAsymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Υλικό δείγματος	Δείγματα αναπνευστικού και ουρογεννητικού συστήματος
Ονομασία πρωτοκόλλου	Complex400_OBL_V4_DSP
Προκαθορισμένο σετ προτύπου ελέγχου μεθόδου	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
Με δυνατότητα επεξεργασίας	Όγκος παράγωγου έκλουσης: 60 μl, 85 μl, 110 μl
Απαιτούμενη λογισμικού έκδοση	Έκδοση 4.0

Μαρτίου 2012



Sample & Assay Technologies

Συρτάρι «Sample» (Δείγμα)

Τύπος δείγματος		Δείγματα αναπνευστικού (βρογχοπνευμονική έκπλυση (BAL), ξηροί σπειροει επιχρισμάτων, μέσα μεταφοράς, αναρροφήσεις, πτύελα) και ουρογεννητικού συστήματος (ούρα, μέσα μεταφοράς)
Όγκος δείγματος:		Εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σωληναρίου δείγματος: για περισσότερες πληροφορίες βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Αρχικά δείγματος	σωληνάκια	Βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks , για περισσότερες πληροφορίες
Δευτερεύοντα δείγματος	σωληνάκια	Βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks , για περισσότερες πληροφορίες
Ένθετα		Εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σωληναρίου δείγματος: για περισσότερες πληροφορίες βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Άλλο		Απαιτείται μείγμα φορέα RNA- ρυθμιστικού διαλύματος AVE. Η χρήση προτύπου εσωτερικού ελέγχου είναι προαιρετική

Συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 και/ή A2	Φύσιγγα αντιδραστηρίου (RC)
Θέση B1	δεν εφαρμ.
Στήριγμα θηκών ρυγχών 1–17	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl
Στήριγμα θηκών ρυγχών 1–17	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 μl
Στήριγμα κουτιών μονάδας 1–4	Κουτιά μονάδας που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων
Στήριγμα κουτιών μονάδας 1–4	Κουτιά μονάδων που περιέχουν περιβλήματα 8 ράβδων

δεν εφαρμ. = δεν εφαρμόζεται.

Συρτάρι «Waste» (Απόβλητα)

Στήριγμα κουτιών μονάδας 1–4	Άδεια κουτιά μονάδας
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Φιάλη υγρών αποβλήτων

Συρτάρι «Eluate» (Παράγωγο έκλουσης)

Βάση στήριξης έκλουσης (συνιστούμε τη χρήση της υποδοχής 1, θέση ψύξης)	Βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks , για περισσότερες πληροφορίες
---	---

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά

	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες, 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*	
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl ^{†‡}	96	96	128	128	
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 μl ^{†‡}	128	192	224	288	
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων [§]	18	36	54	72	
Περιβλήματα ράβδων	8	3	6	9	12

* Η εκτέλεση περισσότερων της μίας σάρωσης υλικού απαιτεί πρόσθετα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου. Η χρήση λιγότερων από 24 δείγματα ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

[†] Κάθε βάση στήριξης ρυγχών περιέχει 32 ρύγχη φίλτρου.

[‡] Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίου.

[§] Κάθε κουτί μονάδας περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δείγματος.

[¶] Κάθε κουτί μονάδας περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.

Σημείωση: Ο αριθμός των εκάστοτε ρυγχών φίλτρου ενδέχεται να διαφέρει από τους αριθμούς που αναγράφονται στην οθόνη αφής, ανάλογα με τις ρυθμίσεις, π.χ. τον αριθμό των προτύπων εσωτερικού ελέγχου που χρησιμοποιούνται ανά παρτίδα.

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης (μl)*	Αρχικός όγκος έκλουσης (μl)†
60	90
85	115
110	140

* Ο όγκος έκλουσης που επιλέχθηκε στην οθόνη αφής. Αυτός είναι ο ελάχιστος προσβάσιμος όγκος του παραγώγου έκλουσης στο τελικό σωληνάριο έκλουσης.

† Ο αρχικός όγκος του διαλύματος έκλουσης που απαιτείται για τη διασφάλιση του πραγματικού όγκου του παραγώγου έκλουσης είναι ο ίδιος με τον επιλεγμένο όγκο.

Προετοιμασία μείγματος προτύπου εσωτερικού ελέγχου-φορέα RNA (CARRIER)-ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE)

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης (μl)	Αρχικός όγκος φορέα RNA (CARRIER) (μl)	Όγκος προτύπου εσωτερικού ελέγχου (μl)*	Όγκος ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE) (μl)	Τελικός όγκος ανά δείγμα (μl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Ο υπολογισμός της ποσότητας προτύπου εσωτερικού ελέγχου βασίζεται στους αρχικούς όγκους έκλουσης. Ο πρόσθετος κενός όγκος εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σωληναρίου δείγματος. Για περισσότερες πληροφορίες βλ. www.qiaagen.com/goto/dsphandbooks.

Σημείωση: Οι τιμές του πίνακα αναφέρονται σε προετοιμασία μείγματος προτύπου εσωτερικού ελέγχου-φορέα RNA (CARRIER) για καθοδικό προσδιορισμό που απαιτεί 0,1 μl προτύπου εσωτερικού ελέγχου/μl παραγώγου έκλουσης.

Λύση εκτός συσκευής

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας υλικού (MSDS), τα οποία και είναι διαθέσιμα από τον προμηθευτή του.

Τα πρωτόκολλα QIASymphony Complex αποτελούνται από 4 βήματα: λύση, πρόσδεση, πλύση, έκλουση. Για ορισμένα δείγματα ενδείκνυται η χειροκίνητη εκτέλεση της λύσης, π.χ. για την εξουδετέρωση παθογόνων μικροοργανισμών, σε ερμάριο βιοασφάλειας. Το πρωτόκολλο Complex400_OBL_V4_DSP επιτρέπει την εκτέλεση χειροκίνητης λύσης με παρόμοιο τρόπο όπως στο πρωτόκολλο Complex400_V4_DSP. Τα δείγματα που έχουν υποβληθεί σε προκαταρκτική επεξεργασία μεταφέρονται στο QIASymphony SP και υποβάλλονται σε επεξεργασία με το Complex400_OBL_V4_DSP.

Σημείωση: Το πρωτόκολλο Complex400_OBL_V4_DSP απαιτεί ρυθμιστικό διάλυμα ACL και ρυθμιστικό διάλυμα ATL (ATL). Το ρυθμιστικό διάλυμα ACL (αριθ. κατ. 939017) και το ρυθμιστικό διάλυμα ATL (ATL) (αριθ. κατ. 939016) δεν αποτελούν μέρος του QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit και πρέπει να παραγγελθούν ξεχωριστά.

Χειροκίνητη λύση

1. **Μεταφέρετε με πιπέτα 40 μl πρωτεΐνάσης K, 165 μl ρυθμιστικού διαλύματος ATL (ATL), 120 μl μείγματος φορέα RNA – προτύπου εσωτερικού ελέγχου και 315 μl ρυθμιστικού διαλύματος ACL σε σωληνάριο Sarstedt των 2 ml (αριθ. κατ. 72.693 ή 72.694).**

Σημείωση: Εάν πρόκειται να υποβληθούν σε επεξεργασία με χειροκίνητη λύση περισσότερα του ενός δείγματα, μπορείτε να προετοιμάσετε πρωτογενές διάλυμα αυτού του διαλύματος. Απλώς πολλαπλασιάστε τους όγκους που απαιτούνται για ένα δείγμα με το συνολικό αριθμό των δειγμάτων που θα υποβληθούν σε επεξεργασία και προσθέστε πρόσθετο όγκο που αντιστοιχεί σε 2 ακόμη δείγματα. Αναστρέψτε το σωληνάριο αρκετές φορές για ανάμιξη, μεταφέρετε 640 μl σε σωληνάριο Sarstedt των 2 ml για κάθε δείγμα και συνεχίστε κατόπιν για κάθε δείγμα με το βήμα 4.

2. **Κλείστε το κάλυμμα και αναμίξτε αναστρέφοντας τα σωληνάρια 5 φορές.**
3. **Φυγοκεντρίστε σύντομα το σωληνάριο για να απομακρύνετε σταγονίδια από το εσωτερικό του καλύμματος.**
4. **Προσθέστε 400 μl δείγματος στο σωληνάριο, κλείστε το κάλυμμα και αναμίξτε με παλμική ανάδευση σε αναδευτήρα vortex για 10 δευτερόλεπτα.**
5. **Επιάστε το σωληνάριο στους 68 °C για 15 λεπτά (± 1 λεπτό).**
6. **Φυγοκεντρίστε σύντομα το σωληνάριο για να απομακρύνετε σταγονίδια από το εσωτερικό του καλύμματος.**
7. **Τοποθετήστε τα ένθετα για τα ενδεδειγμένα σωληνάρια δειγμάτων σε φορέα δειγμάτων και φορτώστε τα σωληνάρια δειγμάτων (χωρίς καλύμματα).**

Προετοιμασία του υλικού δείγματος

Ούρα

Τα ούρα μπορούν να υποβληθούν σε διεργασία χωρίς περαιτέρω προκαταρκτική επεξεργασία. Το σύστημα έχει βελτιστοποιηθεί για καθαρά δείγματα ούρων που δεν περιέχουν συντηρητικά. Για την αύξηση της ευαισθησίας έναντι βακτηριακών παθογόνων, μπορείτε να φυγοκεντρίσετε τα δείγματα. Μετά την απόρριψη του υπερκείμενου υγρού, το ίζημα μπορεί να ανακατανεμηθεί σε τουλάχιστον 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος ATL (ATL) (αριθ. κατ. 939016). Χρησιμοποιήστε 400 μl του υλικού που έχει υποβληθεί σε προκαταρκτική επεξεργασία ως δείγμα για την προετοιμασία της λύσης εκτός συσκευής.

Απομόνωση γονιδιωματικού DNA από θετικά κατά Gram βακτηρίδια

Ο καθαρισμός DNA μπορεί να βελτιωθεί για ορισμένα θετικά κατά Gram βακτηρίδια με ενζυματική προκαταρκτική επεξεργασία, πριν από τη μεταφορά του δείγματος στο QIAAsymphony SP και την εκκίνηση του πρωτοκόλλου Complex400_OBL_V4_DSP.

1. Καθίζηση βακτηριδίων με φυγοκέντρωση στις 5000 x g για 10 λεπτά.
2. Κατανείμετε το βακτηριακό υπόλειμμα σε 400 μl του κατάλληλου ενζυμικού διαλύματος (20 mg/ml λυσοζύμης ή 200 μg/ml λυσοσταφίνης σε 20 mM Tris-HCl, pH 8,0 - 2 mM EDTA - 1,2 % Triton X-100).
3. Επώαση στους 37°C για τουλάχιστον 30 λεπτά (± 2 λεπτά).
4. Σύντομη φυγοκέντρωση του σωληναρίου για την απομάκρυνση σταγονιδίων από το εσωτερικό του καλύμματος.
5. Χρησιμοποιήστε 400 μl του υλικού που έχει υποβληθεί σε προκαταρκτική επεξεργασία ως δείγμα για την προετοιμασία της λύσης εκτός συσκευής.

Παχύρρευστα ή βλενώδη δείγματα

Ορισμένα δείγματα (π.χ. πτύελα, αναρροφήσεις αναπνευστικών οδών) ενδέχεται να είναι παχύρρευστα και χρήζουν υγροποίησης ώστε να μπορούν να διανεμηθούν με πιπέτα. Τα δείγματα χαμηλού ιξώδους δεν απαιτούν πρόσθετη προετοιμασία. Τα δείγματα μετρίου έως υψηλού ιξώδους θα πρέπει να προετοιμάζονται ως εξής.

1. Αραίωση του δείγματος σε αναλογία 1:1 με Sputasol*[†] (Oxoid, αριθ. κατ. SR0233) ή 0,3% (β./ό.) DTT.

Σημείωση: Το διάλυμα DTT 0,3% μπορεί να ετοιμαστεί εκ των προτέρων και να φυλαχθεί σε επιμερισμένες ποσότητες στους -20°C. Τα αποψυγμένα κλάσματα θα πρέπει να απορρίπτονται μετά τη χρήση τους.

* Sputasol (Oxoid, αριθ. κατ. SR0233, www.oxoid.com) ή διθειοτρεϊτόλη (DTT).

[†] Δεν πρόκειται για πλήρη λίστα προμηθευτών.

2. Επώαση στους 37°C έως ότου το ιξώδες του δείγματος ενδείκνυται για διανομή με πιπέτα.
3. Χρησιμοποιήστε 400 μl του υλικού που έχει υποβληθεί σε προκαταρκτική επεξεργασία ως δείγμα για την προετοιμασία της λύσης εκτός συσκευής.

Ξηροί στείλεοι σωματικών υγρών και εκκρίσεων

1. Βύθιση του άκρου του ξηρού στείλεού σε 650 μl ρυθμιστικού διαλύματος ATL (ATL) (αριθ. κατ. 939016), και επώαση στους 56°C για 15 λεπτά (\pm 1 λεπτό), με συνεχή ανάμιξη. Εάν η ανάμιξη δεν είναι εφικτή, αναδεύστε σε αναδευτήρα vortex πριν και μετά την επώαση για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.
2. Αφαιρέστε το στείλεό και πιέστε τον στο εσωτερικό τοίχωμα του σωληναρίου για την έκθλιψη όλου του υγρού.
3. Χρησιμοποιήστε 400 μl του υλικού που έχει υποβληθεί σε προκαταρκτική επεξεργασία ως δείγμα για την προετοιμασία της λύσης εκτός συσκευής.

Σημείωση: Αυτό το πρωτόκολλο έχει βελτιστοποιηθεί για στείλεούς με βαμβάκι ή πολυαιθυλένιο. Εάν χρησιμοποιούνται διαφορετικοί στείλεοί, ίσως χρειαστεί να προσαρμόσετε τον όγκο του ρυθμιστικού διαλύματος ATL (ATL) για να διασφαλίσετε πως υπάρχουν τουλάχιστον 400 μl διαθέσιμα ως υλικό δείγματος.

Επιχρίσματα αναπνευστικού ή ουρογεννητικού συστήματος

Τα μέσα φύλαξης για επιχρίσματα του αναπνευστικού ή ουρογεννητικού συστήματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν χωρίς προκαταρκτική επεξεργασία. Εάν δεν έχει αφαιρεθεί ο στείλεός, πιέστε τον στο τοίχωμα του σωληναρίου για την έκθλιψη του υγρού. Τυχόν περίσσεια βλέννης στο δείγμα πρέπει να τώρα να απομακρυνθεί, συλλέγοντάς τη στο στείλεό. Τυχόν υπολειμματικό υγρό από τη βλέννη και το στείλεό θα πρέπει να εκθλιβεται με πίεση του στείλεού στο τοίχωμα του σωληναρίου. Στο τέλος ο στείλεός και η βλέννη αφαιρούνται και απορρίπτονται. Εάν πρόκειται για παχύρρευστα δείγματα, εκτελέστε βήμα υγροποίησης (βλ. «Παχύρρευστα ή βλενώδη δείγματα» . παραπάνω) προτού μεταφέρετε το δείγμα στο QIASymphony SP. Εάν δεν υπάρχει επαρκές αρχικό υλικό, μεταφέρετε με πιπέτα ρυθμιστικό διάλυμα ATL (ATL) στο μέσο μεταφοράς για την προσαρμογή του ελάχιστου αρχικού όγκου και αναδεύστε το δείγμα σε αναδευτήρα vortex για 15–30 δευτερόλεπτα στο σωληνάριο (εάν το μέσο μεταφοράς περιέχει το στείλεό, εκτελέστε αυτό το βήμα πριν από την αφαίρεση του στείλεού). Χρησιμοποιήστε 400 μl του υλικού ως δείγμα για την προετοιμασία της λύσης εκτός συσκευής.

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του kit QIAGEN. Εγχειρίδια της QIAGEN διατίθενται κατόπιν παραγγελίας από το Τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό αντιπρόσωπο της QIAGEN. Επιλεγμένα εγχειρίδια είναι διαθέσιμα για καταφόρτωση στη διεύθυνση www.qiagen.com/literature. Δελτία δεδομένων ασφάλειας υλικού (MSDS) για κάθε προϊόν της QIAGEN είναι διαθέσιμα για καταφόρτωση στη διεύθυνση www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, QIASymphony® (Όμιλος QIAGEN). Οι καταχωρημένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λ.π. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται ως μη προστατευμένα από το νόμο, ακόμη και αν δεν επισημαίνονται ειδικά ως τέτοια.

© 2012 QIAGEN, με τη διατήρηση κάθε δικαιώματος.

www.qiagen.com
Australia ■ 1-800-243-800
Austria ■ 0800/281010
Belgium ■ 0800-79612
Canada ■ 800-572-9613
China ■ 021-51345678
Denmark ■ 80-885945
Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930
Germany ■ 02103-29-12000
Hong Kong ■ 800 933 965
Ireland ■ 1800 555 049
Italy ■ 800 787980
Japan ■ 03-5547-0811
Korea (South) ■ 1544 7145
Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592
Norway ■ 800-18859
Singapore ■ 65-67775366
Spain ■ 91-630-7050
Sweden ■ 020-790282
Switzerland ■ 055-254-22-11
UK ■ 01293-422-911
USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies