

Joulukuu 2017

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

## Complex800\_V6\_DSP -protokolla

Tämä asiakirja on Complex800\_V6\_DSP QIASymphony SP -protokollalomake, R2, QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -tarvikesarjalle, versio 1.

## Yleistä

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kitarvikesarja on tarkoitettu in vitro -diagnostiikkaan.

<b>Sarja</b>	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -tarvikesarja
<b>Näyttemateriaali</b>	Hengitysteiden ja urogenitaali alueen näytteet
<b>Protokollan nimi</b>	Complex800_V6_DSP
<b>Analyysin kontrollin oletusasetus</b>	ACS_Complex800_V6_DSP_default_IC
<b>Muokattavissa</b>	Eluaattitilavuus: 60 µl, 85 µl, 110 µl
<b>Tarvittava ohjelmistoversio</b>	Versio 4.0 tai uudempi

## Sample (Näyte) -lokero

<b>Näytetyyppi</b>	Hengitysteiden näytteet (BAL-neste, kuivat näytetikut, kuljetusaine, aspiraatiit, yskös) ja urogenitaaliset näytteet (virtsa, kuljetusaine)
<b>Näytemäärä</b>	Käytetyn näyteputken mukaan. Lisätietoja on osoitteessa <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Ensisijaiset näyteputket</b>	Lisätietoja on osoitteessa <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Toissijaiset näyteputket</b>	Lisätietoja on osoitteessa <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Asettimet</b>	Käytetyn näyteputken mukaan. Lisätietoja on osoitteessa <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Muu</b>	Kantaja-RNA:n ja AVE-puskurin seos tarvitaan. Sisäisen kontrollin käyttö on valinnaista.

## Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokero

<b>Asento A1 ja/tai A2</b>	Reagenssikasetti (Reagent cartridge, RC)
<b>Asento B1</b>	ATL-puskuri (ATL)
<b>Kärkitelineen pidike 1-17</b>	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl
<b>Kärkitelineen pidike 1-17</b>	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1500 µl
<b>Yksikkölaatikon pidike 1-4</b>	Yksikkölaatikot sisältävät näytteen valmistelukasetit
<b>Yksikkölaatikon pidike 1-4</b>	Yksikkölaatikot sisältävät kannet 8-tangolle

## Waste (Jäte) -lokero

<b>Yksikkölaatikon pidike 1–4</b>	Tyhjät yksikkölaatikot
<b>Jätepussin pidike</b>	Jätepussi
<b>Nestejätepullon pidike</b>	Nestejätepullo

## Eluate (Eluaatti) -lokero

<b>Eluaattiteline (suositus: aukko 1, jäähdytyspaikka)</b>	Lisätietoja on osoitteessa <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
--	--

## Tarvittavat laboratoriotarvikkeet

	<b>Yksi erä, 24 näytettä*</b>	<b>Kaksi erää, 48 näytettä*</b>	<b>Kolme erää, 72 näytettä*</b>	<b>Neljä erää, 96 näytettä*</b>
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl <sup>†‡</sup>	34	60	86	112
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1500 µl <sup>†‡</sup>	123	205	295	385
Näytteen valmistelukasetit <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-sauvaiset kannet <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Jos erässä käytetään useampaa kuin yhtä sisäistä kontrollia ja tarvikkeiden tarkistuksia tehdään enemmän kuin yksi, tarvitaan lisää kertakäyttöisiä suodatinkärkiä. Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä suodatinkärkiä.

<sup>†</sup> Suodatinkärkiä on 32 kärkitelinettä kohti.

<sup>‡</sup> Tarvittavien suodatinkärkien määrä sisältää suodatinkärjet yhteen tarvikkeiden tarkistukseen reagenssikasettia kohti.

<sup>§</sup> Näytteen valmistelukasetteja on 28 yksikkölaatikkoa kohti.

<sup>¶</sup> 8-sauvaisia kansia on 12 yksikkölaatikkoa kohti.

**Huomautus:** Mainittu suodatinkärkien määrä voi poiketa kosketusnäytössä näkyvästä luvusta asetusten mukaan. Tähän vaikuttaa esimerkiksi erässä käytettävien sisäisten kontrollien määrä.

## Valittu eluaattitilavuus

Valittu eluaattitilavuus (µl)*	Alkuperäinen eluaattitilavuus (µl)†
60	90
85	115
110	140

\* Kosketusnäytöstä valittu eluaattitilavuus. Tämä on pienin käytettävissä oleva eluaattitilavuus viimeisessä eluutioputkessa.

† Alkuperäinen eluutioliuksen tarvittava tilavuus, jolla varmistetaan, että eluaatin todellinen tilavuus on sama kuin valittu tilavuus.

## Sisäisestä kontrollista, kantaja-RNA:sta ja AVE-puskurista koostuvan seoksen valmistaminen

Valittu eluaattitilavuus (µl)	Kantaja-RNA:n tilavuus (CARRIER) (µl)	Sisäisen kontrollin tilavuus (µl)*	AVE-puskurin tilavuus (AVE) (µl)	Lopullinen näytekohtainen tilavuus (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

\* Sisäisen kontrollin tilavuus lasketaan eluaatin alkuperäisten tilavuuksien perusteella. Tyhjä tilavuus määräytyy käytetyn näyteputken mukaan. Lisätietoja on osoitteessa [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

**Huomautus:** Taulukon arvot koskevat sisäisen kontrollin ja kantaja-RNA:n (CARRIER) seoksen valmistamista myöhempää testiä varten, jonka tarvittava määrä on 0,1 µl sisäistä kontrollia / µl eluaatti.

Sisäisestä kontrollista, kantaja-RNA:sta (CARRIER) ja AVE-puskurista (AVE) koostuvaa seosta sisältävät putket asetetaan putkialustalle. Sisäisestä kontrollista, kantaja-RNA:sta (CARRIER) ja AVE-puskurista (AVE) koostuvia seoksia sisältävä putkialusta on asetettava näytelokeron aukkoon A.

Suosittellemme käyttämään käsiteltävien näytteiden määrän mukaan 2 ml:n putkia (Sarstedt, luettelonumero 72.693 tai 72.694) tai pyöreäpohjaisia 14 ml:n 17 x 100 mm:n polystyreeniputkia (Becton Dickinson, luettelonumero 352051) sisäisen kontrollin laimennusta varten, kuten seuraavassa taulukossa esitetään. Määrä voidaan jakaa kahteen tai useampaan putkeen.

## Sisäisen kontrolliseoksen tilavuuden laskenta

Putkimalli	QIASymphonyn kosketusnäytössä näkyvä nimi	Sisäisestä kontrollista, kantaja-RNA:sta (CARRIER) ja AVE-puskurista(AVE) koostuvan seoksen putkikohtaisen tilavuuden laskenta
Korkillinen 2 ml:n mikroputki; polypropeeninen 2 ml:n mikroputki, REUNALLINEN, (Sarstedt, luettelonumero 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Korkillinen 2 ml:n mikroputki; polypropeeninen 2 ml:n mikroputki, REUNATON, (Sarstedt, luettelonumero 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Pyöreäpohjainen polystyreeniputki 14 ml, 17 x 100 mm (Becton Dickinson, luettelonumero 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

\* Tällä yhtälöllä lasketaan sisäisen kontrolliseoksen tarvittava tilavuus ( $n$  = näytteiden määrä;  $120 \mu\text{l}$  = sisäisestä kontrollista, kantaja-RNA:sta (CARRIER) ja AVE-puskurista (AVE) koostuvan seoksen tilavuus;  $360 \mu\text{l}$  = tarvittava tyhjä tilavuus putkea kohti). Esimerkiksi 12 näytettä varten ( $n = 12$ ):  $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1\ 800 \mu\text{l}$ . Täytä putkeen enintään 1,9 ml (eli enintään 12 näytettä putkea kohti). Jos käsiteltäviä putkia on yli 12, käytä lisäputkia ja varmista, että kuhunkin putkeen lisätään tyhjä tilavuus.

† Tällä yhtälöllä lasketaan sisäisestä kontrollista, kantaja-RNA:sta (CARRIER) ja AVE-puskurista (AVE) koostuvan seoksen tarvittava tilavuus ( $n$  = näytteiden määrä;  $120 \mu\text{l}$  = sisäisestä kontrollista, kantaja-RNA:sta (CARRIER) ja AVE-puskurista (AVE) koostuvan seoksen tilavuus;  $600 \mu\text{l}$  = tarvittava tyhjä tilavuus putkea kohti). Esimerkiksi 96 näytettä varten ( $n = 96$ ):  $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12\ 120 \mu\text{l}$ .

Tietoja tarvittavista tuista on osoitteessa [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks)

## FIX-laboratoriotarvikkeiden käyttäminen

Kun näytteiden siirrossa käytetään nestetason tunnistusta (Liquid-Level Detection, LLD), voidaan käyttää ensi- ja toissijaisia putkia. Silloin putkissa tarvitaan tietyt kuolleita tilavuuksia. Kuolleiden tilavuuksien pienentämiseksi toissijaisia putkia tulisi käyttää ilman nestetason tunnistusta. Saatavissa on FIX-laboratoriotarvikkeita (esimerkiksi SAR\_FIX\_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), jotka voidaan valita myös QIASymphony SP:n kosketusnäytöstä. Tämä putki- ja telinemalli asettaa aspirointiin liittyviä rajoituksia. Näyte aspiroidaan putkessa tietyllä korkeudella, joka määräytyy siirrettävän näytemäärän mukaan. Siksi on tärkeää käyttää laboratoriotarvikeluettelossa mainittua määrää. Laboratoriotarvikeluetteloita voidaan ladata osoitteesta [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

Osoitteessa [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) on luettelo nestetason tunnistuksen kanssa tai ilman sitä käytettävistä näyteputkista sekä tarvittavista näytemääristä. Älä käytä tarvittavaa tilavuutta pienempiä tai suurempia tilavuuksia, sillä ne voivat aiheuttaa virheitä näytteen valmistelussa.

Samassa erässä/ajossa voidaan käsitellä putkia, jotka on tarkoitettu käytettäväksi nestetason tunnistuksen kanssa.

## Näytemateriaalin valmistelu

Työskenneltäessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja saat tuotekohtaisista käyttöturvallisuustiedotteista (material safety data sheets, MSDSs), jotka ovat saatavana tuotteen toimittajalta.

### Virtsa

Virtsa voidaan käsitellä ilman muuta esikäsitteilyä. Siirrä näyte 2 ml:n Sarstedt-putkeen (luettelonumero 72.693 tai 72.694) ja aseta näyte putkialustalle. Voit käyttää myös ensisijaisia putkia. Tarvittava pienin aloitusmäärä voi vaihdella käytettävän ensisijaisen putken mukaan. Osoitteessa [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) on luettelo yhteensopivista ensi- ja toissijaisista putkimalleista sekä tiedot kunkin protokollan pienimmästä aloitusmäärästä. Järjestelmä on optimoitu puhtaille virtsanäytteille, joissa ei ole säilytysaineita. Näytteiden patogeeneihin liittyvää herkkyyttä voidaan lisätä käyttämällä näytteet sentrifugissa. Pinnalla kelluvan osan poistamisen jälkeen pelletti voidaan suspendoida uudelleen ATL-puskurissa (ATL), jonka tilavuus on vähintään 800 µl (luettelonumero 939016). Siirrä näyte 2 ml:n Sarstedt-putkeen (luettelonumero 72.693 tai 72.694). Aseta näyte putkialustalle ja käsittele näyte Complex800\_V6\_DSP-protokollan mukaan tarvittavilla FIX-laboratoriotarvikkeilla.

### Genomisen DNA:n eristäminen grampositiivisista bakteereista

Joidenkin grampositiivisten bakteerien DNA:n puhdistusta voidaan parantaa entsyymaattisella esikäsitteilyllä ennen näytteen siirtämistä QIASymphony SP -laitteeseen ja Complex800\_V6\_DSP-protokollan aloittamista.

1. Pelletoi bakteereita käyttämällä sentrifugissa 5 000 x g 10 minuuttia.
2. Suspendoi bakteeripelletti sopivassa entsyymiliuoksessa (900 µl) (20 mg/ml lysosyymiä tai 200 µg/ml lysostafiinia; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % Triton X-100).
3. Inkuboi 37°C:n lämpötilassa vähintään 30 minuutin ajan (± 2 minuuttia).
4. Poista tipat korkin sisäpuolelta käyttämällä putkea nopeasti sentrifugissa.
5. Siirrä näyte 2 ml:n Sarstedt-putkeen (luettelonumero 72.693 tai 72.694), aseta näyte putkialustalle ja jatka Complex800\_V6\_DSP-protokollan mukaisesti tarvittavilla FIX-laboratoriotarvikkeilla.

## Viskoosit tai limaiset näytteet

Jotkin näytteet (kuten yskökset ja hengitysteiden aspiraatiit) saattavat olla viskooseja ja ne on nesteytettävä pipetointia varten. Lisävalmisteluja ei tarvita, jos näytteet ovat vain vähän viskooseja. Jos näytteet ovat jonkin verran tai hyvin viskooseja, ne on valmistettava seuraavalla tavalla:

1. Laimenna näyte 1:1 Sputasolilla\*† (Oxoid, luettelonumero SR0233) tai 0,3-prosenttisella (w/v) DTT:llä.

**Huomautus:** 0,3-prosenttinen (w/v) DTT-liuos voidaan tehdä etukäteen ja säilyttää alikvooteissa -20 °C:n lämpötilassa. Hävitä sulaneet alikvootit käytön jälkeen.

2. Inkuboi 37 °C:n lämpötilassa, kunnes näytteen viskositeetti soveltuu pipetointiin.
3. Siirrä vähintään 900 µl näytettä 2 ml:n Sarstedt-putkeen (luettelonumero 72.693 tai 72.694). Käsittele näyte Complex800\_V6\_DSP-protokollan mukaan.

## Kuivatut ruumiinnesteiden ja eritteiden näytetikut

1. Upota kuivatun näytetikun kärki ATL-puskuriin (ATL) 1150 µl (luettelonumero 939016) ja inkuboi 56 °C:n lämpötilassa 15 minuutin ajan (± 1 minuutti) jatkuvasti sekoittaen. Jos sekoittaminen ei ole mahdollista, käytä vortex-laitteessa ennen inkubointia ja inkuboinnin jälkeen vähintään 10 sekuntia.
2. Ota näytetikku pois ja purista siitä kaikki neste painamalla näytetikkoa putken sisäpintaa vasten.
3. Siirrä vähintään 900 µl näytettä 2 ml:n Sarstedt-putkeen (luettelonumero 72.693 tai 72.694). Käsittele näyte Complex800\_V6\_DSP-protokollalla.

**Huomautus:** Tämä protokolla on optimoitu pumpuli- ja polyeteenitikuille. Muita näytetikkuja käytettäessä saattaa olla tarpeen muuttaa ATL-puskurin (ATL) määrää, jotta näytemateriaalia on varmasti käytettävissä vähintään 900 µl.

\* Sputasol (Oxoid, luettelonumero SR0233, [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com)) tai ditiotreitoli (DTT).

† Toimittajaluettelo ei ole kattava.

## Kuljetusaineessa säilytettävät hengitysteiden ja urogenitaalialueen näytetikut

Hengitysteiden ja urogenitaalialueen näytetikujen säilytysainetta voidaan käyttää ilman esikäsitteilyä. Jos näytetikku ei ole otettu pois, purista siitä neste painamalla näytetikku putken kylkeä vasten. Näytteen liiallinen lima on poistettava tässä vaiheessa keräämällä se näytetikun pinnalle. Tämän jälkeen näytetikusta ja limasta jäljelle jäänyt neste on puristettava pois painamalla näytetikku putken kylkeä vasten. Lopuksi näytetikku ja lima poistetaan ja hävitetään. Jos näytteet ovat viskooseja, tee nesteytysvaihe (ohjeita on edellä kohdassa Viskoosit tai limaiset näytteet) ennen kuin siirrät näytteen QIAsymphony SP -laitteeseen. Jos aloitusmateriaalia ei ole tarpeeksi, muuta tarvittavaa pienintä aloitusmäärää pipetoimalla ATL-puskuria kuljetusaineeseen ja käyttämällä näytettä vortex-laitteessa 15–30 sekuntia (jos näytetikku on kuljetusaineessa, tee tämä vaihe ennen näytetikun poistamista). Siirrä näyte 2 ml:n Sarstedt-putkeen (luettelonumero 72.693 tai 72.694) ja aseta näyte putkialustalle. Voit käyttää myös ensisijaisia putkia. Tarvittava pienin aloitusmäärä voi vaihdella käytettävän ensisijaisen putken mukaan. Osoitteessa [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) on luettelo yhteensopivista ensi- ja toissijaisista putkista sekä tiedot kunkin protokollan pienimmästä aloitusmäärästä.



## Muutoshistoria

Asiakirjan muutoshistoria	
R2 12/2017	Päivitys QIAsymphony-ohjelmistoversiolle 5.0

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN®-pakkausten käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä huollosta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.  
12/2017 HB-0301-S30-002 © 2017 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

---

Tilaukset [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tekninen tuki [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Verkkosivusto [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)