

---

Prosinac 2017.

# QIASymphony<sup>®</sup> SP list protokola

## Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokol

Ovaj dokument predstavlja Complex400\_OBL\_V4\_DSP *QIASymphony SP Protocol Sheet*, R2, za QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, verzija 1.

## Opće informacije

Komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen je namijenjen za in vitro dijagnostičku uporabu.

<b>Kit</b>	QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit
<b>Materijal uzorka</b>	Respiratorni i urogenitalni uzorci
<b>Naziv protokola</b>	Complex400_OBL_V4_DSP
<b>Dodijeljen set kontrola ispitivanja</b>	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
<b>Moguće urediti</b>	Volumen eluata: 60 µl, 85 µl, 110 µl
<b>Potrebna verzija softvera</b>	Verzija 4.0 ili viša

## Ladica uzorka “Sample”

<b>Vrsta uzorka</b>	Respiratorni uzorci (BAL, osušeni obrisici, transportni medij, aspirati, sputum) i urogenitalni uzorci (mokraća, transportni medij)
<b>Volumen uzorka</b>	Ovisi o vrsti korištene epruvete za uzorak, za više informacija pogledati <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Primarne epruvete za uzorke</b>	Za više informacija pogledati <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Sekundarne epruvete za uzorke</b>	Za više informacija pogledati <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Umeci</b>	Ovisi o vrsti korištene epruvete za uzorak, za više informacija pogledati <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Drugo</b>	Potrebna je smjesa nosača RNA i pufera AVE (Carrier RNA–Buffer AVE); korištenje unutarnje kontrole prema izboru

## Ladica reagensa i potrošnog materijala “Reagents and Consumables”

<b>Pozicija A1 i/ili A2</b>	Kazeta reagensa (RC)
<b>Pozicija B1</b>	n/a
<b>Držać stalka s nastavcima 1–17</b>	Jednokratni nastavci s filtrima, 200 µl
<b>Držać stalka s nastavcima 1–17</b>	Jednokratni nastavci s filtrima, 1500 µl
<b>Držać bloka kutije 1–4</b>	Blokovi kutija sadrže kazete za pripremu uzoraka
<b>Držać bloka kutije 1–4</b>	Blokovi kutija sadrže pokrove s 8 štapića

n/a = nije primjenjivo.

## Ladica otpada “Waste”

<b>Držać bloka kutije 1–4</b>	Prazni blokovi kutija
<b>Držać vrećice za otpad</b>	Vrećica za otpad

<b>Držač bloka kutije 1–4</b>	Prazni blokovi kutija
<b>Držač boce tekućeg otpada</b>	Boca tekućeg otpada

## Ladica eluata “Eluate”

<b>Stalak za eluiranje (preporučamo korištenje ležišta 1, pozicija hlađenja)</b>	Za više informacija pogledati <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
----------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

## Potreban plastični pribor

	Jedna serija, 24 uzorka*	Dvije serije, 48 uzoraka*	Tri serije, 72 uzorka*	Četiri serije, 96 uzoraka*
Jednokratni nastavci s filtrima, 200 µl <sup>†‡</sup>	96	96	128	128
Jednokratni nastavci s filtrima, 1500 µl <sup>†‡</sup>	128	192	224	288
Kazete za pripremu uzorka <sup>§</sup>	18	36	54	72
Pokrovi s 8 štapića <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Izvođenje više od jednog pregleda inventara zahtjeva dodatne jednokratne nastavke s filtrima. Korištenje manje od 24 uzoraka po seriji umanjuje broj potrebnih jednokratnih nastavaka potrebnih za seriju.

<sup>†</sup> Na jednom stalku ima 32 nastavka s filtrima.

<sup>‡</sup> Broj potrebnih nastavaka s filtrima uključuje nastavke s filtrima za 1 pregled inventara po kazeti s reagensima.

<sup>§</sup> U jednom bloku kutije ima 28 kazeta za pripremu uzorka.

<sup>¶</sup> U jednom bloku kutije ima dvanaest pokrova s 8 štapića.

**Napomena:** Navedeni brojevi nastavaka s filtrom mogu se razlikovati od brojeva prikazanih na zaslonu osjetljivom na dodir ovisno o postavkama, na primjer, broju unutarnjih kontrola korištenih u seriji ispitivanja.

## Odabran volumen eluiranja

Odabran volumen eluiranja (µl)*	Početni volumen eluiranja (µl) <sup>†</sup>
60	90
85	115
110	140

\* Volumen eluiranja odabran na zaslonu. Ovo je najmanji dostupni volumen eluata u konačnoj epruveti za eluiranje.

<sup>†</sup> Početni volumen otopine za eluiranje potreban za osiguranje da je stvarni volumen eluata isti kao odabrani volumen.

## Priprema smjese unutarnje kontrole–nosača RNA (CARRIER) i pufera AVE (AVE)

Odabran volumen eluiranja (µl)	Volumen matične otopine nosača RNA (CARRIER) (µl)	Volumen unutarnje kontrole (µl)*	Volumen pufera AVE (AVE) (µl)	Konačan volumen po uzorku (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11.5	105.5	120
110	3	14	103	120

\* Izračun količine unutarnje kontrole se temelji na početnim volumenima eluiranja. Dodatni ostatni volumen ovisi o vrsti uzorka koji će se koristiti; za više informacija pogledati [www.qiagen.com/goto/dspandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dspandbooks).

**Napomena:** Vrijednosti prikazane u tablici su za pripremu smjese unutarnje kontrole – nosača RNA (CARRIER) za ispitivanje koje slijedi koje zahtjeva 0.1 µl unutarnje kontrole/µl eluata.

### Liziranje izvan uređaja

Kada radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajući laboratorijski ogrtač, jednokratne rukavice i zaštitne naočale. Za više informacija pogledajte odgovarajuće sigurnosno-tehničke listove (engl. material safety data sheets, MSDS) dostupne od dobavljača proizvoda.

QIASymphony Complex protokoli se sastoje od 4 koraka: liziranje, vezanje, pranje eluiranje. Za neke je uzorke korisno provesti ručno liziranje, na primjer, za inaktivaciju patogena u biosigurnosnom kabinetu. Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokol omogućuje izvođenje ručnog liziranja na sličan način kao i s protokolom Complex400\_V6\_DSP. Pretretirani uzorci se prenose na QIASymphony SP i obrađuju prema Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokolu

**Napomena:** Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokol zahtjeva pufer ACL i pufer ATL (ATL). Pufer ACL (kat. br. 939017) i pufer ATL (ATL) (kat. br. 939016) nisu dio QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kita i treba ih zasebno naručiti.

### Ručno liziranje

1. Pipetirajte 40 µl proteinaze K, 165 µl pufera ATL (ATL), 120 µl smjese nosača RNA i unutarnje kontrole i 315 µl pufera ACL u jednu epruvetu od 2 ml Sarstedt (kat. br. 72.693 ili 72.694).

**Napomena:** Kada će ručnim liziranjem biti obrađeno više od jednog uzorka, za ovu otopinu se može pripremiti matična otopina. Jednostavno pomnožite volumene potrebne za jedan uzorak s ukupnim brojem uzoraka za obradu i uključite dodatni volumen

potreban za dva dodatne uzorka. Okrenite epruvetu nekoliko puta zbog miješanja, prebacite 640 µl u epruvetu od 2 ml za svaki uzorak, a zatim nastavite za svaki uzorak s korakom 4.

2. Zatvorite poklopac i miješajte okrećući epruvetu 5 puta.
3. Kratko centrifugirajte epruvetu zbog uklanjanja kapljica iz unutrašnjosti poklopca.
4. Dodajte 400 µl uzorka u epruvetu, zatvorite poklopac i miješajte pulsним vrtloženjem kroz 10 sekundi.
5. Inkubirajte epruvetu na 68°C kroz 15 minuta ( $\pm$  1 minuta).
6. Kratko centrifugirajte epruvetu zbog uklanjanja kapljica iz unutrašnjosti poklopca.
7. Postavite umetke za odgovarajuće epruvete s uzorcima u nosač epruveta i ubacite epruvete s uzorcima (bez poklopca).

## Priprema materijala uzorka

### Mokraća

Mokraća se može obrađivati bez daljnje pripreme. Sustav je optimiran za čiste uzorke urina koji ne sadrže konzervanse. Zbog povećanja osjetljivosti na bakterijske patogene, uzorci se mogu centrifugirati. Nakon odbacivanja supernatanta, talog se može resuspendirati u najmanje 400 µl pufera ATL (ATL) (kat. br. 939016). Upotrijebite 400 µl pripremljenog materijala kao uzorak za izvođenje liziranja izvan uređaja.

### Izolacija genomske DNA iz Gram-pozitivnih bakterija

Pročišćavanje DNA se može poboljšati za neke Gram-pozitivne bakterije enzimskim pretretiranjem prije prijenosa uzorka u QIASymphony SP i početka Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokola.

1. Istaložite bakterije centrifugiranjem na 5000 x g kroz 10 minuta.
2. Otopite talog bakterija u 400 µl odgovarajuće otopine enzima (20 mg/ml lizozima ili 200 µg/ml lizostafina; 20 mM Tris-HCl, pH 8.0; 2 mM EDTA; 1.2% Triton X-100).
3. Inkubirajte na 37°C kroz najmanje 30 minuta ( $\pm$  2 minute).
4. Kratko centrifugirajte epruvetu zbog uklanjanja kapljica iz unutrašnjosti poklopca.
5. Upotrijebite 400 µl pretretiranog materijala za pripremu liziranja van uređaja.

## Viskozni ili mukozni uzorci

Neki uzorci (npr., sputum, respiratorni aspirati) mogu biti viskozni i zahtjevati likvefakciju zbog omogućavanja pipetiranja. Uzorci niske viskoznosti ne zahtjevaju dodatnu pripremu. Srednje do visoko viskozne uzorke treba pripremiti kako slijedi:

1. Razrijedite uzorak 1:1 s Sputasolom\*† (Oxoid, kat. br. SR0233) ili 0.3% (w/v) DTTom.

**Napomena:** 0.3 % otopina DTTa se može unaprijed pripremiti i čuvati na –20°C u odgovarajućim alikvotima. Otopljene alikvote treba baciti nakon uporabe.

2. Inkubirajte na 37°C dok viskoznost uzorka ne bude pogodna za pipetiranje.
3. Upotrijebite 400 µl predretiranog materijala za pripremu liziranja van uređaja.

## Osušene tjelesne tekućine i sekrecijski obrisci

1. Uronite osušeni štapić s obriskom u 650 µl pufera ATL (ATL) (kat. br. 939016) i inkubirajte na 56°C kroz 15 minuta ( $\pm$  1 minuta), uz neprestano miješanje. Ako miješanje nije moguće, vrtložite prije i nakon inkubacije kroz najmanje 10 sekundi.
2. Uklonite obrisak i istisnite svu tekućinu pritiskujući obrisak na unutrašnjost epruvete.
3. Upotrijebite 400 µl pretretiranog materijala za pripremu liziranja van uređaja.

**Napomena:** Ovaj je protokol optimiran za pamučne ili polietilenske obriske. Kada koristite druge obriske, može biti potrebno prilagoditi volumen pufera ATL (ATL) zbog osiguranja da će biti dostupno barem 400 µl materijala uzorka.

## Respiratorni ili urogenitalni obrisci

Medij za čuvanje respiratornih i urogenitalnih obrisaka se može koristiti bez predpripreme. Ako obrisak nije uklonjen, pritisnite obrisak na stranicu epruvete kako biste istisnuli tekućinu. Suvišni mucus u uzorku treba u ovom trenutku ukloniti skupljajući ga obriskom. Ostatnu tekućinu iz mukusa i s obriska zatim treba istisnuti pritiskujući obrisak na stranicu epruvete. Na kraju treba obrisak i mukus ukloniti i baciti. Ako su uzorci viskozni, provedite korak likvefakcije (pogledajte iznad "Viskozni ili mukozni uzorci") prije prebacivanja uzorka u QIASymphony SP. Ako nema dovoljno početnog materijala, pipetirajte puffer ATL (ATL) u transportni medij kako biste prilagodili potrebni najmanji početni volumen i vrtložite uzorak u epruveti tijekom 15–30 sekundi (ako transportni medij sadrži obrisak, izvedite ovaj korak prije uklanjanja obriska). Upotrijebite 400 µl pretretiranog materijala za pripremu liziranja van uređaja.

## Povijest revizija

Povijest revizija dokumenta	
R2 12/2017	Ažuriranje za QIASymphony inačicu softvera 5.0

Za ažurirane informacije o licenciranju te za proizvode specifična ograničenja, pogledajte odgovarajući QIAGEN® priručnik ili uputu. QIAGEN priručnici se mogu zatražiti od QIAGENove tehničke podrške ili Vašeg lokalnog distributera. Odabrani se priručnici mogu preuzeti s [www.qiagen.com/literature](http://www.qiagen.com/literature). Sigurnosno-tehničke listove (MSDS) za bilo koji QIAGENov proizvod možete preuzeti s [www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx](http://www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx).

Zaštitni znakovi: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Zaštićena imena, zaštitni znakovi, itd. korišteni u ovom dokumentu, čak i ako nisu posebno označeni kao takvi, ne mogu se smatrati nezaštićeni zakonom.  
12/2017 HB-0301-S29-002 © 2017 QIAGEN, sva prava pridržana.

---

Naručivanje [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehnička podrška [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Web stranica [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)