

---

Grudzień 2017

# Karta protokołu QIAasymphony<sup>®</sup> SP

## Protokół Complex800\_V6\_DSP

Niniejszy dokument to *karta protokołu QIAasymphony SP Complex800\_V6\_DSP R2* dla zestawu QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, wersja 1.

## Informacje ogólne

Zestaw QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit jest przeznaczony do diagnostyki in vitro.

|   |  |
|---|--|
| <b>Zestaw</b>                                       | QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit                |
| <b>Materiał próbki</b>                              | Próbki z dróg oddechowych lub układu moczowo-płciowego |
| <b>Nazwa protokołu</b>                              | Complex800_V6_DSP                                      |
| <b>Domyślny zestaw ustawień kontrolnych badania</b> | ACS_Complex800_V6_DSP_default_IC                       |
| <b>Możliwość dostosowania</b>                       | Objętość eluatu: 60 µl, 85 µl, 110 µl                  |
| <b>Wymagana wersja oprogramowania</b>               | Wersja 4.0 lub wyższa                                  |

## Szuflada „Sample” (Próbka)

|                         |  |
|-------------------------|--|
| <b>Typ próbki</b>       | Próbki z dróg oddechowych (z płukania oskrzelowo-płucnego, osuszonych wymazówek, podłoża transportowego, aspiraty, flegma) i z układu moczowo-płciowego (mocz, z podłoża transportowego) |
| <b>Objętość próbki</b>  | Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>                         |
| <b>Próbki pierwotne</b> | Więcej informacji znajduje się na stronie <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>   |
| <b>Próbki dodatkowe</b> | Więcej informacji znajduje się na stronie <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>   |
| <b>Wkłady</b>           | Zależy od typu używanej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>                         |
| <b>Inne</b>             | Wymagana mieszanina nośnik RNA-bufor AVE; użycie kontroli wewnętrznej jest opcjonalne  |

## Szuflada „Reagents and Consumables” (Odczynniki i materiały eksploatacyjne)

|   |   |
|---|---|
| <b>Pozycja A1 i/lub A2</b>                  | Kartridż z odczynnikiem (reagent cartridge, RC)           |
| <b>Pozycja B1</b>                           | Bufor ATL (ATL)   |
| <b>Uchwyt na statyw na końcówki 1–17</b>    | Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl                    |
| <b>Uchwyt na statyw na końcówki 1–17</b>    | Jednorazowe końcówki z filtrem, 1500 µl                   |
| <b>Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4</b> | Opakowania jednostkowe zawierające kartridże sample prep  |
| <b>Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4</b> | Opakowania jednostkowe zawierające zamknięcia 8-sztyftowe |

## Szuflada „Waste” (Odpady)

|                                      |                              |
|--------------------------------------|------------------------------|
| Uchwyt na opakowanie jednostkowe 1–4 | Puste opakowania jednostkowe |
| Uchwyt na worek na odpady            | Worek na odpady              |
| Uchwyt na butlę na odpady płynne     | Butla na odpady płynne       |

## Szuflada „Eluate” (Eluat)

|   |  |
|---|--|
| Statyw elucji (zalecamy używanie gniazda 1, pozycji chłodzenia) | Więcej informacji znajduje się na stronie <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> |
|---|--|

## Wymagany sprzęt z tworzywa sztucznego

|   | Jedna partia,<br>24 próbki* | Dwie partie,<br>48 próbek* | Trzy partie,<br>72 próbki* | Cztery partie,<br>96 próbek* |
|---|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Jednorazowe końcówki z filtrem, 200 µl <sup>††</sup>  | 34                          | 60                         | 86                         | 112                          |
| Jednorazowe końcówki z filtrem, 1500 µl <sup>††</sup> | 123                         | 205                        | 295                        | 385                          |
| Kartridże sample prep <sup>§</sup>                    | 18                          | 36                         | 54                         | 72                           |
| Zamknięcia 8-sztyftowe <sup>¶</sup>                   | 3                           | 6                          | 9                          | 12                           |

\* Użycie więcej niż jednej kontroli wewnętrznej na jedną partię oraz przeprowadzenie więcej niż jednego skanowania inwentaryzującego wymaga dodatkowych jednorazowych końcówek z filtrem. W przypadku używania mniej niż 24 próbek na jedną partię zmniejsza się liczba jednorazowych końcówek z filtrem wymaganych na cykl.

<sup>†</sup> Statyw na końcówki zawiera 32 końcówki z filtrem.

<sup>††</sup> Liczba wymaganych końcówek z filtrem obejmuje końcówki z filtrem dla 1 skanowania inwentaryzującego na kartridż z odczynnikami.

<sup>§</sup> Opakowanie jednostkowe zawiera 28 kartridży sample prep.

<sup>¶</sup> Opakowanie jednostkowe zawiera dwanaście zamknięć 8-sztyftowych.

**Uwaga:** W zależności od ustawień, na przykład liczby kontroli wewnętrznych używanych na partię, podane liczby końcówek z filtrem mogą się różnić od liczb wyświetlanych na ekranie dotykowym.

## Wybrana objętość elucji

| Wybrana objętość elucji (μl)* | Początkowa objętość elucji (μl)† |
|-------------------------------|----------------------------------|
| 60                            | 90                               |
| 85                            | 115                              |
| 110                           | 140                              |

\* Objętość elucji wybrana na ekranie dotykowym. Jest to minimalna dostępna objętość eluatu w końcowej próbce elucji.

† Początkowa objętość roztworu elucji wymagana do zapewnienia właściwej objętości eluatu, równej wcześniej wybranej wartości.

## Przygotowanie mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE)

| Wybrana objętość elucji (μl) | Objętość roztworu podstawowego nośnika RNA (CARRIER) (μl) | Objętość kontroli wewnętrznej (μl)* | Objętość buforu AVE (AVE) (μl) | Końcowa objętość na próbkę (μl) |
|------------------------------|---|-------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| 60                           | 3   | 9                                   | 108                            | 120                             |
| 85                           | 3   | 11,5                                | 105,5                          | 120                             |
| 110                          | 3   | 14                                  | 103                            | 120                             |

\* Obliczenie ilości kontroli wewnętrznej opiera się na początkowych objętościach elucji. Dodatkowa objętość nieużyteczna zależy od typu użytej próbki; więcej informacji znajduje się na stronie [www.qiagen.com/goto/dsphanthbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphanthbooks).

**Uwaga:** Wartości widoczne w tabeli służą do przygotowania mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER) dla dalszej analizy, w której wymagane jest 0,1 μl kontroli wewnętrznej na μl eluatu.

Próbki zawierające mieszaninę kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) umieszcza się w nośniku próbek. Nośnik próbek zawierający mieszaninę(-ny) kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) należy umieścić w gnieździe A szuflady „Sample” (Próbka).

W zależności od liczby przetwarzanych próbek zalecamy używanie próbek o pojemności 2 ml (Sarstedt, nr kat. 72.693 lub 72.694) lub próbek polistyrenowych z okrągłym dnem 17 x 100 mm o pojemności 14 ml (Becton Dickinson, nr kat. 352051) w celu rozcieńczenia kontroli wewnętrznej w sposób opisany w poniższej tabeli. Objętość można podzielić na 2 lub więcej próbek.

## Obliczanie objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej

| Typ próbek   | Nazwa wyświetlona na ekranie dotykowym aparatu QIA Symphony | Obliczenie objętości mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) na próbkę |
|--|---|--|
| Mikroprobówka 2 ml z wieczkiem, mikroprobówka 2 ml, PP, STOŻKOWE DNO W KOŁNIERZU PRZEDŁUŻAJĄCYM (Sarstedt, nr kat. 72.694)       | SAR#72.694<br>T2.0 ScrewSkirt                               | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$   |
| Mikroprobówka 2 ml z wieczkiem, mikroprobówka 2 ml, PP, BEZ STOŻKOWEGO DNA W KOŁNIERZU PRZEDŁUŻAJĄCYM (Sarstedt, nr kat. 72.693) | SAR#72.693<br>T2.0 Screw                                    | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$   |
| Probówka 14 ml, 17 x 100 mm polistyrenowa z okrągłym dnem (Becton Dickinson, nr kat. 352051)                                     | BD#352051<br>FalconPP 17x100                                | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$   |

\* To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontroli wewnętrznej ( $n$  = liczba próbek;  $120 \mu\text{l}$  = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE);  $360 \mu\text{l}$  = objętość nieużyteczna wymagana na każdą próbkę). Na przykład dla 12 próbek ( $n = 12$ ):  $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$ . Nie napieniać próbki do objętości większej niż 1,9 ml (tj. maksymalnie 12 próbek na próbkę). Jeśli będzie przetwarzanych więcej niż 12 próbek, użyć dodatkowych próbek, upewniając się, że objętość nieużyteczna została dodana do każdej próbki.

† To równanie służy do obliczenia wymaganej objętości mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE) ( $n$  = liczba próbek;  $120 \mu\text{l}$  = objętość mieszaniny kontrola wewnętrzna-nośnik RNA (CARRIER)-bufor AVE (AVE);  $600 \mu\text{l}$  = objętość nieużyteczna wymagana na każdą próbkę). Na przykład dla 96 próbek ( $n = 96$ ):  $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$ .

Informacje o wymaganych wkładach znajdują się na stronie [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

## Korzystanie ze sprzętu laboratoryjnego FIX

Korzystanie z wykrywania poziomu płynu (liquid-level detection, LLD) podczas przenoszenia próbek, umożliwia stosowanie próbek pierwotnych i dodatkowych. Jednak w takim przypadku w odpowiednich probówkach wymagane są określone objętości martwe. Aby zminimalizować objętości martwe, należy używać próbek dodatkowych bez wykrywania poziomu płynu. Dostępny jest określony sprzęt laboratoryjny FIX (np. SAR\_FIX\_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), który można również wybrać na ekranie dotykowym aparatu QIA Symphony SP. Ten typ probówki/statywu nakłada ograniczenia na aspirację. Próbkę jest aspirowana na określonej wysokości probówki, która jest zdefiniowana przez objętość przenoszonej próbki. Z tego względu kluczowe jest upewnienie się, że stosowana jest objętość wymieniona na liście sprzętów laboratoryjnych. Listy sprzętów laboratoryjnych można pobrać ze strony [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

Probówki, których można użyć z wykrywaniem poziomu płynu lub bez takiego wykrywania, oraz wymagane objętości próbek są wymienione na stronie [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

Nie stosować objętości większych lub mniejszych od wymaganej objętości, gdyż może to prowadzić do błędów podczas przygotowania próbki.

W jednej partii/cykle można przetwarzać próbki przeznaczone do użytku z wykrywaniem poziomu płynu lub bez takiego wykrywania.

## Przygotowanie materiału próbki

W czasie pracy ze środkami chemicznymi należy zawsze używać odpowiedniego fartucha laboratoryjnego, rękawiczek jednorazowych i okularów ochronnych. Więcej informacji można znaleźć w odpowiednich kartach charakterystyki substancji niebezpiecznych (material safety data sheets, MSDS), dostępnych u dostawcy produktu.

### Mocz

Próbki moczu można przetwarzać bez dalszego wstępnego przygotowania. Przenieść próbkę do próbki Sarstedt o pojemności 2 ml (nr kat. 72.693 lub 72.694) i umieścić próbkę w nośniku próbek. Można również użyć próbek pierwotnych. Wymagana minimalna objętość początkowa może się różnić w zależności od używanej próbki pierwotnej. Zgodne formaty próbek pierwotnych i dodatkowych, w tym minimalna objętość początkowa wymagana dla każdego protokołu, są wymienione na stronie [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks). System jest zoptymalizowany dla próbek czystego moczu, które nie zawierają środków konserwujących. Aby zwiększyć czułość wykrywania patogenów bakteryjnych, można odwirować próbki. Po odrzuceniu supernatantu osad można zawiesić w co najmniej 800 µl buforu ATL (ATL) (nr kat. 939016). Przenieść próbkę do próbki Sarstedt o pojemności 2 ml (nr kat. 72.693 lub 72.694). Umieścić próbkę w nośniku próbek i przetworzyć próbkę, stosując protokół Complex800\_V6\_DSP i wymagany sprzęt laboratoryjny FIX.

### Izolacja genomowego DNA z bakterii Gram-dodatnich

Proces oczyszczania DNA można ulepszyć dla niektórych bakterii Gram-dodatnich, wykonując wstępną obróbkę enzymatyczną próbki przed przeniesieniem jej do aparatu QIASymphony SP i rozpoczęciem protokołu Complex800\_V6\_DSP.

1. Strącić bakterie, wirując próbkę przy 5000 x g przez 10 minut.
2. Zawiesić osad bakteryjny w 900 µl odpowiedniego roztworu enzymu (lizozym o stężeniu 20 mg/ml lub lizostafina o stężeniu 200 µg/ml; 20 mM bufor Tris·HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100).
3. Inkubować w temperaturze 37°C przez co najmniej 30 minut (± 2 minuty).

4. Odwirować krótko próbkę w celu usunięcia kropli z wewnętrznej części wieczka.
5. Przenieść próbkę do próbówki Sarstedt o pojemności 2 ml (nr kat. 72.693 lub 72.694), umieścić próbkę w nośniku probówek i kontynuować wykonywanie protokołu Complex800\_V6\_DSP, stosując odpowiedni sprzęt laboratoryjny FIX.

#### Próbki lepkie lub próbki ze śluzem

Niektóre próbki (np. flegma, aspiraty z dróg oddechowych) mogą być lepkie i wymagać upłynnienia, aby było możliwe ich pipetowanie. Probki o małej lepkości nie wymagają dodatkowego przygotowania. Probki o od średniej do dużej lepkości należy przygotować w następujący sposób:

1. Rozcieńczyć próbkę w stosunku 1:1 odczynnikiem Sputasol\*† (Oxoid, nr kat. SR0233) lub 0,3-procentowym (w/v) roztworem DTT.  
**Uwaga:** 0,3-procentowy (w/v) roztwór DTT można przygotować wcześniej i przechowywać w porcjach w temperaturze –20°C. Rozmrożone porcje należy wyrzucić po użyciu.
2. Inkubować w temperaturze 37°C do momentu, gdy lepkość próbki będzie umożliwiała pipetowanie.
3. Przenieść co najmniej 900 µl próbki do próbówki Sarstedt o pojemności 2 ml (nr kat. 72.693 lub 72.694). Przetworzyć próbkę, stosując protokół Complex800\_V6\_DSP.

#### Osuszone wymazówki z płynami ustrojowymi i wydzielinami

1. Zanurzyć końcówkę osuszonej wymazówki w 1150 µl buforu ATL (ATL) (nr kat. 939016) i inkubować w temperaturze 56°C przez 15 minut (± 1 minuta) z ciągłym mieszaniem. Jeśli mieszanie nie jest możliwe, przed i po inkubacji wytrząsać przez co najmniej 10 sekund.
2. Wyciągnąć wymazówkę i odcisnąć cały płyn, przyciskając wymazówkę do wewnętrznej ścianki próbówki.
3. Przenieść co najmniej 900 µl próbki do próbówki Sarstedt o pojemności 2 ml (nr kat. 72.693 lub 72.694). Przetworzyć próbkę, stosując protokół Complex800\_V6\_DSP.

**Uwaga:** Protokół jest zoptymalizowany dla wymazówek bawełnianych lub wykonanych z polietylenu. W przypadku używania innych wymazówek może być konieczne dostosowanie objętości buforu ATL (ATL), aby zagwarantować, że co najmniej 900 µl będzie dostępne jako materiał próbki.

\* Sputasol (Oxoid, nr kat. SR0233, [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com)) lub ditiotreititol (DTT).

† Nie jest to pełna lista dostawców.

## Wymazówki do dróg oddechowych lub układu moczowo-płciowego przechowywane w podłożu transportowym

Podłoża transportowego dla wymazówek do dróg oddechowych lub układu moczowo-płciowego można używać bez wstępnego przygotowania. Jeśli nie wyciągnięto wymazówki, przycisnąć wymazówkę do ścianki próbki, aby odcisnąć płyn. Na tym etapie należy usunąć wszelki nadmiar śluzu znajdujący się w próbce, zbierając go na wymazówkę. Następnie należy odcisnąć pozostałości płynu od śluzu, przyciskając wymazówkę do ścianki próbki. Na końcu należy wyciągnąć i zutylizować wymazówkę ze śluzem. Jeśli próbki są lepkie, przed przeniesieniem ich do aparatu QIASymphony SP należy wykonać etap upłynniania (patrz część „Próbki lepkie lub próbki ze śluzem” powyżej). Jeśli nie ma wystarczającej ilości materiału początkowego, przenieść bufor ATL (ATL) za pomocą pipety do podłoża transportowego do wymaganej minimalnej objętości początkowej i wytrząsać próbkę w próbce przez 15–30 sekund (jeśli w podłożu transportowym znajduje się wymazówka, wykonać ten etap przed wyciągnięciem wymazówki). Przenieść próbkę do próbki Sarstedt o pojemności 2 ml (nr kat. 72.693 lub 72.694) i umieścić próbkę w nośniku próbek. Można również użyć probówek pierwotnych. Wymagana minimalna objętość początkowa może się różnić w zależności od używanej próbki pierwotnej. Zgodne próbki pierwotne i dodatkowe, w tym minimalna objętość początkowa wymagana dla każdego protokołu, są wymienione na stronie [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

## Historia zmian

| Historia zmian dokumentu |  |
|--------------------------|--|
| R2 12/2017               | Aktualizacja dla wersji 5.0 oprogramowania QIASymphony |

Aktualne informacje licencyjne oraz wyłączenia odpowiedzialności dla poszczególnych produktów znajdują się w odpowiedniej instrukcji obsługi lub podręczniku użytkownika zestawu QIAGEN®. Instrukcje obsługi lub podręczniki użytkownika zestawu QIAGEN są dostępne w witrynie [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Można je także zamówić w serwisie technicznym lub u lokalnego dystrybutora firmy QIAGEN.

Znaki towarowe: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Zastrzeżonych nazw, znaków towarowych itd. wykorzystywanych w niniejszym dokumencie, nawet jeżeli nie zostały oznaczone jako zastrzeżone, nie można uważać za niechronione przepisami prawa.  
12/2017 HB-0301-S30-002 © 2017 QIAGEN, wszelkie prawa zastrzeżone.



---

Składanie zamówień [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Pomoc techniczna [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Strona WWW [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)