

2017. gada decembris

QIASymphony[®] SP protokola lapa

Complex200_V6_DSP protokols

Šis dokuments ir Complex200_V6_DSP QIASymphony SP protokola lapa, R2, paredzēts QIASymphony DSP
Virus/Pathogen Mini Kit, 1. versija.

Vispārīga informācija

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ir paredzēts in vitro diagnostikas lietošanai.

Komplekts	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Parauga materiāls	Elpceļu un uroģenitālie paraugi
Protokola nosaukums	Complex200_V6_DSP
Noklusējuma testa kontroles komplekts	ACS_Complex200_V6_DSP_default_IC
Rediģējams	Izvērtēšanas tilpums: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Nepieciešamā programmatūras versija	Versija 4.0 vai jaunāka

“Sample” (Paraugu) atvilktnē

Parauga tips	Elpceļu paraugi (BAL, sausi uztriepju kociņi, transportviela, elpceļu izdalījumi, krēpas) un uroģenitālie paraugi (urīns, transportviela)
Parauga tilpums	Atkarībā no izmantotā parauga stobriņa tipa; papildinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Primāro paraugu stobriņi	Papildinformācija vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Sekundāro paraugu stobriņi	Papildinformācija vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Ieliktni	Atkarībā no izmantotā parauga stobriņa tipa; papildinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Citi	Nepieciešams nēsātāja RNS–buferšķīduma AVE maisījums; iekšējās kontroles izmantošana ir neobligāta

“Reagents and Consumables” (Reaģentu un izlietojamo materiālu) atvilktnē

Pozīcija A1 un/vai A2	Reaģenta kasetne (Reagent cartridge, RC)
Pozīcija B1	Buferšķīduma ATL (ATL)
Uzgaļu paplātes turētājs 1–17	Vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi, 200 µl
Uzgaļu paplātes turētājs 1–17	Vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi, 1500 µl
Komplekta kārbas turētājs 1-4	Komplekta kārbas satur paraugu sagatavošanas kasetnes
Komplekta kārbas turētājs 1-4	Komplekta kārbas satur 8 stobriņu pārsegus

“Waste” (Izlietotā materiāla) atvilktnē

Komplekta kārbas turētājs 1-4	Tukšas komplekta kārbas
Atkritumu maisa turētājs	Atkritumu maiss
Šķidro atkritumu pudeles turētājs	Šķidro atkritumu pudele

“Eluate” (Eluāta) atvilktne

Elūcijas plaukts (iesakām izmantot 1. slotu, dzesēšanas pozīcija)

Papildinformācija vietnē
www.qiagen.com/goto/dsphandbooks

Nepieciešamie plastmasas piederumi

	Viena partija, 24 paraugi*	Divas partijas, 48 paraugi*	Trīs partijas, 72 paraugi*	Četras partijas, 96 paraugi*
Vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi, 200 µl†‡	34	60	86	112
Vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi, 1500 µl†‡	123	205	295	385
Paraugu sagatavošanas kasetnes§	18	36	54	72
8 stobriņu pārsegi¶	3	6	9	12

* Ja uz vienu partiju tiek izmantota vairāk kā viena iekšējā kontrole un veikta vairāk kā viena inventāra skenēšana, nepieciešami papildu vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi. Ja uz partiju tiek izmantoti mazāk par 24 paraugiem, samazinās arī katrā piegājjienā nepieciešamo vienreizējās lietošanas uzgaļu skaits.

† Pieejami 32 filtru uzgaļi uzgaļu paplātē.

‡ Nepieciešamo filtru uzgaļu skaits ietver filtru uzgaļus 1 inventāra skenēšanai uz katru reaģenta kasetni.

§ Pieejamas 28 paraugu sagatavošanas kasetnes komplekta kārbā.

¶ Pieejami divpadsmit 8 stobriņu pārsegi komplekta kārbā.

Piezīme. Norādītais filtru uzgaļu skaits var atšķirties no skārienekrānā parādītā skaita atkarībā no iestatījumiem, piemēram, uz katru partiju izmantoto iekšējo kontroļu skaita.

Izvēlētais elūcijas tilpums

Izvēlētais elūcijas tilpums (µl)*	Sākotnējais elūcijas tilpums (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Skārienekrānā izvēlētais elūcijas tilpums. Šis ir minimālais pieejamais eluāta tilpums beigu elūcijas stobriņā.

† Sākotnējais elūcijas šķidruma tilpums, kas nepieciešams, lai nodrošinātu, ka eluāta faktiskais tilpums ir identisks izvēlētajam tilpumam.

Iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķīduma AVE (AVE) maisījuma sagatavošana

Izvēlētais elūcijas tilpums (μl)	Nēsātāja RNS (CARRIER) tilpums (μl)	Iekšējās kontroles tilpums (μl)*	Buferšķīduma AVE (AVE) tilpums (μl)	Beigu tilpums uz katru paraugu (μl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Iekšējās kontroles daudzuma aprēķina pamatā ir sākotnējie elūcijas tilpumi. Papildu neizmantojamais tilpums ir atkarīgs no izmantotā parauga stobriņa tipa; papildinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Piezīme. Tabulā norādītās vērtības ir paredzētas iekšējās kontroles-nēsātāja RNS (CARRIER) maisījuma sagatavošanai lejupplūsmas analīzei, kurai nepieciešama 0,1 μl iekšējā kontrole/μl eluāts.

Stobriņi, kas satur iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķīduma AVE (AVE) maisījumu, ir ievietoti stobriņu pārnēsātājā. Stobriņu pārnēsātājs, kas satur iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķīduma AVE (AVE) maisījumu(s), ir jāievieto paraugu atvilktnes A slotā.

Atkarībā no apstrādājamo paraugu skaita mēs iesakām izmantot 2 ml stobriņus (Sarstedt, kat. Nr. 72.693 vai 72.694) vai 14 ml 17 x 100 mm polistirola apaļgala stobriņus (Becton Dickinson, kat. Nr. 352051), lai atšķaidītu iekšējo kontroli, kā aprakstīts tālāk esošajā tabulā. Tilpumu iespējams sadalīt 2 vai vairāk stobriņos.

Iekšējās kontroles maisījuma tilpuma aprēķināšana

Stobriņa tips	Nosaukums QIASymphony skārienekrānā	Iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)– buferšķīduma AVE (AVE) maisījuma tilpuma aprēķināšana uz stobriņu
Mikro stobriņš 2 ml ar aizbāzni; mikro stobriņš 2 ml, PP, PILNMALU, (Sarstedt, kat. Nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 120 µl) + 360 µl*
Mikro stobriņš 2 ml ar aizbāzni; mikro stobriņš 2 ml, PP, NAV PILNMALU, (Sarstedt, kat. Nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 120 µl) + 360 µl*
Stobriņš 14 ml, 17 x 100 mm polistīrola apaļgala (Becton Dickinson, kat. Nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	(n x 120 µl) + 600 µl†

* Izmantojiet šo vienādojumu, lai aprēķinātu nepieciešamo iekšējās kontroles maisījuma tilpumu (n = paraugu skaits; 120 µl = iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķīduma AVE (AVE) maisījuma tilpums; 360 µl = uz stobriņu nepieciešamais neizmantojamais tilpums). Piemēram, 12 paraugiem (n = 12): (12 x 120 µl) + 360 µl = 1800 µl.

Neuzpildiet stobriņu vairāk par 1,9 ml (t.i., maksimāli 12 paraugi stobriņā). Ja tiks apstrādāti vairāk nekā 12 paraugi, izmantojiet papildu stobriņus, nodrošinot neizmantojamā tilpuma pievienošanu uz katru stobriņu.

† Izmantojiet šo vienādojumu, lai aprēķinātu nepieciešamo iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķīduma AVE (AVE) maisījuma tilpumu (n = paraugu skaits; 120 µl = iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķīduma AVE (AVE) maisījuma tilpums; 600 µl = uz stobriņu nepieciešamais neizmantojamais tilpums). Piemēram, 96 paraugiem (n = 96): (96 x 120 µl) + 600 µl = 12120 µl.

Informāciju par nepieciešamajiem ieliktniem skatiet vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

FIX laboratorijas aprīkojuma izmantošana

Šķidrums līmeņa noteikšanas (liquid-level detection, LLD) izmantošana paraugu pārvietošanā ļauj izmantot primāros un sekundāros stobriņus. Taču tam nepieciešams konkrēts neizmantojamais tilpums attiecīgajos stobriņos. Lai samazinātu neizmantojamās tilpumus, sekundārie stobriņi ir jāizmanto bez šķidrums līmeņa noteikšanas. Pieejams specifisks FIX laboratorijas aprīkojums (piemēram, SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), ko arī iespējams izvēlēties QIASymphony SP skārienekrānā. Šim stobriņa/paplātes tipam ir ierobežojumi attiecībā uz elpošanu. Paraugi tiek izelpoti stobriņā noteiktā augstumā, un to nosaka pārvietojamā parauga tilpums. Tāpēc ir ļoti svarīgi pārliecināties, ka tiek izmantots laboratorijas aprīkojuma sarakstā norādītais tilpums. Laboratorijas aprīkojuma saraksti ir pieejami lejupielādei vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Paraugu stobriņi, ko iespējams izmantot ar vai bez šķidrums līmeņa noteikšanas, un nepieciešamie paraugu tilpumi arī ir norādīti vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Neizmantojiet tilpumus, kas lielāki vai mazāki par nepieciešamo tilpumu, jo tas var izraisīt kļūdas paraugu sagatavošanas laikā.

Stobriņus šķidrums līmeņa noteikšanai un stobriņus, kas nav paredzēti šķidrums līmeņa noteikšanai, iespējams apstrādāt vienā partijā/laidienā.

Parauga materiāla sagatavošana

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai saņemtu papildinformāciju, iepazīstieties ar attiecīgajām materiālu drošības datu lapām (Material Safety Data Sheets, MSDS), kas ir pieejamas pie produkta piegādātāja.

Urīns

Urīnu iespējams apstrādāt bez iepriekšējas apstrādes. Pārvietojiet paraugu 2 ml Sarstedt stobriņā (kat. Nr. 72.693 vai 72.694) un ievietojiet paraugu stobriņu glabātājā. Alternatīvi iespējams izmantot primāros stobriņus. Nepieciešamais minimālais sākuma tilpums var atšķirties atkarībā no izmantotā primārā stobriņa. Saderīgie primāro un sekundāro stobriņu formāti, tostarp minimālais katram protokolam nepieciešamais sākuma tilpums, ir norādīti vietnē **www.qiagen.com/goto/dsphandbooks**. Sistēma ir optimizēta tīra urīna paraugiem, kas nesatur konservantus. Lai palielinātu bakteriālo patogēnu jutīgumu, paraugu iespējams centrifugēt. Pēc supernatanta izmešanas granulu iespējams resuspendēt vismaz 300 µl buferšķīduma ATL (ATL) (kat. Nr. 939016). Pārvietojiet 220 µl parauga uz 2 ml Sarstedt stobriņu (kat. Nr. 72.693 vai 72.694). Ievietojiet paraugu stobriņu glabātājā un apstrādājiet paraugu, izmantojot Complex200_V6_DSP protokolu un nepieciešamo FIX laboratorijas aprīkojumu.

Genoma DNS izolēšana no grampozitīvās baktērijas

DNS attīrīšanu iespējams uzlabot atsevišķām grampozitīvām baktērijām, izmantojot fermentatīvu iepriekšējo apstrādi pirms parauga pārvietošanas uz QIAAsymphony SP un Complex200_V6_DSP protokola uzsākšanas.

1. Granulējiet baktēriju, veicot centrifugēšanu ar ātrumu 5000 x g 10 minūtes.
2. Suspendējiet bakteriālo granulu 300 µl atbilstoša fermentu šķīduma (20 mg/ml lizocīma vai 200 µg/ml lizostafīna 20 mM Tris·HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100).
3. Inkubējiet 37°C temperatūrā vismaz 30 minūtes (± 2 minūtes).
4. Īslaicīgi centrifugējiet, lai likvidētu pilienus vāka iekšpusē.
5. Pārvietojiet paraugu uz 2 ml Sarstedt stobriņu (kat. Nr. 72.693 vai 72.694), ievietojiet paraugu stobriņu glabātājā un turpiniet ar Complex200_V6_DSP protokolu, izmantojot nepieciešamo FIX laboratorijas aprīkojumu.

Viskozi vai gļotaini paraugi

Daži paraugi (piemēram, krēpas, elpceļu izdalījumi) var būt viskozi, un nepieciešama sašķidrināšana, lai tos uzsūktu pipetē. Zemas viskozitātes paraugiem nav nepieciešama papildu sagatavošana. Vidējas līdz augstas viskozitātes paraugi ir jāsatavo šādi:

1. Izšķīdiniet paraugu 1:1 ar Sputasol*† (Oxoid, kat. Nr. SR0233) vai 0,3% (w/v) DTT.
Piezīme. 0,3% (w/v) DTT šķīdumu iespējams pagatavot iepriekš un uzglabāt alikvotās – 20°C temperatūrā. Pēc lietošanas izmetiet izkusušās alikvotas.
2. Inkubējiet 37°C temperatūrā, līdz parauga viskozitāte ir piemērota pipetēšanai.
3. Pārvietojiet vismaz 300 µl parauga uz 2 ml Sarstedt stobriņu (kat. Nr. 72.693 vai 72.694). Apstrādājiet paraugu, izmantojot Complex200_V6_DSP protokolu.

Sausi ķermeņa šķidrums un sekrētu uztriepes kociņi

1. Iegremdējiet sausā uztriepes kociņa galu 550 µl buferšķīduma ATL (ATL) (kat. Nr. 939016) un inkubējiet 56°C temperatūrā 15 minūtes (± 1 minūte), nepārtraukti jaucot. Ja sajaukšana nav iespējama, skalīniet pirms un pēc inkubācijas vismaz 10 sekundes.
2. Izņemiet kociņu un izspiediet ārā visu šķidrumu, spiežot kociņu pret stobriņa iekšpusi.
3. Pārvietojiet vismaz 300 µl parauga uz 2 ml Sarstedt stobriņu (kat. Nr. 72.693 vai 72.694). Apstrādājiet paraugu, izmantojot Complex200_V6_DSP protokolu.

Piezīme. Šis protokols ir optimizēts kokvilnas vai polietilēna uztriepes kociņiem. Ja izmantojat citus uztriepes kociņus, iespējams, jāpielāgo buferšķīduma ATL (ATL) tilpums, lai nodrošinātu, ka pieejams vismaz 300 µl parauga materiāla.

Elpceļu vai uroģenitālie uztriepes kociņi

Uzglabāšanas līdzekli elpceļu vai uroģenitālajiem uztriepes kociņiem iespējams izmantot bez iepriekšējas apstrādes. Ja uztriepes kociņš nav izņemts, piespiediet kociņu pret stobriņa malu, lai izspiestu šķidrumu. Šajā brīdī jāizspiež visas liekās gļotas no parauga, savācot tās ar kociņu. Viss liekais šķidrums no gļotām un uztriepes kociņa ir jāizspiež laukā, spiežot kociņu pret stobriņa malu. Visbeidzot, uztriepes kociņš un gļotas ir jāizņem un jāizmet. Ja paraugi ir viskozi, izpildiet sašķidrināšanas darbību (skatiet sadaļu "Viskozi vai gļotaini paraugi" iepriekš), pirms pārvietot paraugu uz QIASymphony SP. Ja nav pietiekama sākuma materiāla, pipetējiet buferšķīduma ATL (ATL) transportvielā, lai pielāgotu nepieciešamo minimālo sākuma tilpumu, un saskalīniet

* Sputasol (Oxoid, kat. Nr. SR0233, www.oxoid.com) vai ditiotreitols (DTT).

† Šis nav pilnīgs piegādātāju saraksts.

paraugu 15-30 sekundes stobriņā (ja transportviela satur uztriepes kociņu, veiciet šo darbību pirms uztriepes kociņa izņemšanas). Pārvietojiet paraugu 2 ml Sarstedt stobriņā (kat. Nr. 72.693 vai 72.694) un ievietojiet paraugu stobriņu glabātājā. Alternatīvi iespējams izmantot primāros stobriņus. Nepieciešamais minimālais sākuma tilpums var atšķirties atkarībā no izmantotā primārā stobriņa. Saderīgie primārie un sekundārie stobriņi, tostarp minimālais katram protokolam nepieciešamais sākuma tilpums, ir norādīti vietnē www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Redakciju vēsture

Dokumenta redakciju vēsture	
R2 12/2017	Atjauninājums QIASymphony programmatūras versijai 5.0

Jaunāko informāciju par licencēšanu un preču juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN® komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja instrukcijā. QIAGEN komplektu lietotāja rokasgrāmatas un lietotāja instrukcijas ir pieejamas www.qiagen.com, kā arī tās var pieprasīt QIAGEN tehniskā atbalsta centros vai pie vietējiem preču izplatītājiem.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN grupa). Nedrīkst uzskatīt, ka šajā dokumentā minētos reģistrētos nosaukumus, preču zīmes u.c. neaizsargā likums, pat ja pretējais nav īpaši norādīts.
12/2017 HB-0301-S26-002 © 2017 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

Pasūtīšana www.qiagen.com/shop | Tehniskais atbalsts support.qiagen.com | Tīmekļa vietne www.qiagen.com