
Detsember 2017

QIASymphony[®] SP protokollileht

Protokoll Complex800_OBL_V4_DSP

See dokument on Complex800_OBL_V4_DSP QIASymphony SP protokollileht, R2, komplekti QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit 1. versioon jaoks.

Üldteave

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit on ette nähtud kasutamiseks in vitro diagnostikas.

Komplekt	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Proovimaterjal	Hingamisteede ja urogenitaalproovid
Protokolli nimetus	Complex800_OBL_V4_DSP
Analüüsi kontrolli vaikekomplekt	ACS_Complex800_OBL_V4_DSP
Muudetav	Elueerimismaht: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Nõutav tarkvaraversioon	Versioon 4.0 või uuem

Sahtel „Sample“ (Proov)

Proovitüüp	Hingamisteede proovid (BAL, kuivatatud tampoonid, transpordimeedium, aspiratsioonid, röga) ja urogenitaalproovid (uriin, transpordimeedium)
Proovi maht	Sõltub kasutatavast proovikatsutist; lisateavet vt www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Primaarsed proovikatsutid	Lisateabeks vt veebilehte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Sekundaarsed proovikatsutid	Lisateabeks vt veebilehte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Sisestatavad osad	Sõltub kasutatavast proovikatsutist; lisateavet vt www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Muu	Vajalik on kandja RNA-puhver AVE segu; sisekontrolli kasutamine on valikuline.

Sahtel „Reagents and Consumables“ (Reaktiivid ja tarvikud)

Positsioon A1 ja/või A2	Reaktiivikassett (Reagent cartridge, RC)
Positsioon B1	n/a
Otsikute statiivi hoidik 1–17	Ühekordsed filtriotsakud, 200 µl
Otsikute statiivi hoidik 1–17	Ühekordsed filtriotsakud, 1500 µl
Üksuse karbioidik 1–4	Üksuse karbid, mis sisaldavad proovi ettevalmistamise kassette
Üksuse karbioidik 1–4	Üksuse karbid, mis sisaldavad 8 vardaga kaasi

n/a = pole kohaldatav

Sahtel „Waste“ (Jäätmed)

Üksuse karbioidik 1–4	Tühjad üksuse karbid
Jäätmekoti hoidik	Jäätmekott
Vedeljäätmete pudeli hoidik	Vedeljäätmete pudel

Sahtel „Eluate“ (Eluaat)

Elueerimisraam (soovitame kasutada pesa 1, jahutusasend)

Lisateabeks vt veebilehte
www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Vajalik plastvara

	Üks partii, 24 proovi*	Kaks partiid, 48 proovi*	Kolm partiid, 72 proovi*	Neli partiid, 96 proovi*
Ühekordsed filtriotsakud, 200 µl ^{††}	96	96	128	128
Ühekordsed filtriotsakud, 1500 µl ^{††}	128	192	224	288
Proovi ettevalmistamise kassetid [§]	18	36	54	72
8 vardaga kaaned [¶]	3	6	9	12

* Enam kui ühe sisekontrollskanni korral on vaja rohkem ühekordseid filtriotsakuid. Vähem kui 24 proovi kasutamine partii kohta vähendab vajalike ühekordsete filtriotsakute arvu töötsükli kohta.

[†] Filtriotsakute statiivis on 32 filtriotsakut.

^{††} Vajalike filtriotsakute arvu hulka on arvatud filtriotsakud, mis on vajalikud üheks inventuurskannimiseks reaktiivi kasseti kohta.

[§] Üksuse karbis on 28 proovi ettevalmistamise kassetti.

[¶] Üksuse karbis on kaksteist 8 vardaga kaant.

Märkus. Antud filtriotsakute numbrid võivad sõltuvalt seadetest erineda puutekraanil kuvatavatest numbritest, näiteks partii kohta kasutatavate sisekontrollide arv.

Valitud elueerimismah

Valitud elueerimismah (µl)*	Algne elueerimismah (µl) [†]
60	90
85	115
110	140

* Puutekraanil valitud elueerimismah. See on väikseim võimalik eluaadi kogus viimases elueerimiskatsutis.

[†] Vajalik esmane elueerimislahuse kogus, mis tagab, et tegelik eluaadi kogus oleks sama kui valitud kogusemah.

Sisekontrolli kandja RNA (CARRIER) -puhver AVE (AVE) segu ettevalmistamine

Valitud elueerimismaht (µl)	Kandja RNA (CARRIER) maht (µl)	Sisekontrolli maht (µl)*	Puhvri ATE (ATE) maht (µl)	Lõppmaht proovi kohta (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Sisekontrolli mahu arvutused põhinevad esmastel elueerimismahtudel. Täiendav tühimaht sõltub kasutatavast proovikatsutist; lisateavet vt www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Märkus. Tabelis esitatud väärtused on ette nähtud sisekontroll-kandja RNA (CARRIER) segu ettevalmistamiseks järgneva testimise jaoks, mis vajab 0,1 µl sisekontrolli/µl eluaadile.

Seadmeväline lüüsimine

Kemikaalidega töötamisel kandke alati sobivat laborikilrit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateabeks tutvuge toote tarnija pakutavate vastavate ohutuskaartidega (material safety data sheets, MSDS).

QIASymphony Complex'i protokollid koosnevad neljast astmest: lüüsimine, seostamine, pesemine, elueerimine. Mõne proovi korral on kasulik lüüsida käsitsi, näiteks patogeenide inaktiveerimiseks bioohutuskapis. Protokoll Complex800_OBL_V4_DSP võimaldab lüüsida käsitsi sarnaselt protokolliga Complex800_V6_DSP. Eeltöödeldud proovid viiakse seadmesse QIASymphony SP ja töödeldakse protokolliga Complex800_OBL_V4_DSP.

Märkus. Protokoll Complex800_OBL_V4_DSP vajab puhvrit ACL ja puhvrit ATL (ATL). Puhver ACL (kat. nr 939017) ja puhver ATL (ATL) (kat. nr 939016) ei kuulu komplekti QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit ning tuleb tellida eraldi.

Lüüsimine käsitsi

1. Pipeteerige 80 µl proteinaasi K, 295 µl ATL puhvrit (ATL), 120 µl kandja RNA sisekontrolli segu ja 560 µl ACL puhvrit 4,5 ml katsutisse (Nunc krüokatsuti 12,5 x 92 mm, 4,5 ml polüstüreenist katsuti, Nunc katalooginr 363452).

Märkus. Kui käsitsi lüüsitakse rohkem kui ühte proovi, võib valmistada selle lahuse lähtelahuse. Lihtsalt korrutage ühe proovi jaoks vajalikud kogused kasutatavate proovide koguarvuga ja lisage 2 lisaproovi täiendav maht. Pöörake katsutit segamiseks mitu korda ümber, viige iga proovi kohta 1055 µl 4,5 ml katsutisse ja seejärel jätkake iga proovi korral etapiga 4.

2. Sulgege kaas ja segage läbi pöörates katsutit ümber 5 korda.
3. Tsentrifugeeri katsutit lühidalt, et eemaldada tilgad kaane sisepinnalt.
4. Lisage katsutisse 800 µl proovi, sulgege kaas ja segage 10 sekundit järsult keerates.
5. Inkubeeri katsutit temperatuuril 68°C 15 minutit (± 1 minutit).
6. Tsentrifugeeri katsutit lühidalt, et eemaldada tilgad kaane sisepinnalt. Asetage vastavate proovikatsutite sisendid katsuti kandjasse ja laadige proovikatsutid (ilma kaanteta).

Proovimaterjali ettevalmistamine

Uriin

Uriini saab käidelda ilma täiendava eeltötluseta. Süsteem on optimeeritud puhaste uriiniproovide jaoks, mis ei sisalda säilitusaineid. Tundlikkuse suurendamiseks bakteriaalsetele patogeenidele võib proove tsentrifugeerida. Pärast supernatanti kõrvaldamist võib graanulid uuesti suspendeerida vähemalt 800 µl puhvriga ATL (ATL) (kat. nr 939016). Seadmevälise lüüsimise ettevalmistamiseks kasutage proovina 800 µl eeltöödeldud materjali.

Gram-positiivsete bakterite genoomse DNA eraldamine

Enne proovide üleviimist QIASymphony SP-sse ja protokoll Complex800_OBL_V4_DSP käivitamist võib DNA-puhastamist mõne gram-positiivse bakteri puhul parandada ensümaatilise eeltötluse abil.

1. Sadestage bakterid tsentrifugeerimisega 5000 x g juures 10 minutit.
2. Suspendeeri bakterisade 800 µl sobivas ensüümilahuses (20 mg/ml lüsoosüümi või 200 µg/ml lüsofafiini 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA, 1,2% Triton X – 100).
3. Inkubeeri temperatuuril 37°C vähemalt 30 minutit (± 2 minutit).
4. Tsentrifugeeri katsutit lühidalt, et eemaldada tilgad kaane sisepinnalt.
5. Seadmevälise lüüsimise ettevalmistamiseks kasutage proovina 800 µl eeltöödeldud materjali.

Viskoossed või limased proovid

Mõned proovid (nt röga, hingamisteede aspiraadid) võivad olla viskoossed ja vajavad pipeteerimiseks vedeldamist. Väikese viskoossusega proovid ei vaja täiendavat ettevalmistamist. Keskmise ja suure viskoossusega proovid tuleb ette valmistada järgmiselt.

1. Lahjendage proovi 1: 1 Sputasooliga * † (Oxoid, kat. nr SR0233) või 0,3% (mass/maht) DTT-ga.

Märkus. 0,3% DTT lahuse saab eelnevalt valmis segada ja hoida sobivates alikvootides temperatuuril -20°C. Sulatatud alikvoot tuleb pärast kasutamist kõrvaldada.

2. Inkubeerige temperatuuril 37°C, kuni proovi viskoossus sobib pipeteerimiseks.
3. Seadmevälise lüüsimise ettevalmistamiseks kasutage proovina 800 µl eeltöödeldud materjali.

Kuivatatud kehavedelike ja sekreetide tampoonid

1. Kastke kuivanud tampooni ots 1050 µl ATL puhvrise (katalooginr 939016) ja inkubeerige pidevalt segades 15 minutit (± 1 minut) temperatuuril 56 °C. Kui segamine ei ole võimalik, keerutage enne ja pärast inkubeerimist vähemalt 10 sekundit.
2. Eemaldage tampoon ja väänake kogu vedelik välja, surudes tampooni vastu katsuti seinale.
3. Seadmevälise lüüsimise ettevalmistamiseks kasutage proovina 800 µl eeltöödeldud materjali.

Märkus. See protokoll on optimeeritud puuvill- või polüetüleentampoonidele. Muude tampoonide kasutamisel võib olla vajalik puhvri ATL (ATL) mahu reguleerimine, et tagada vähemalt 800 µl proovimaterjali olemasolu.

Hingamisteede ja urogenitaalsed tampoonid

Hingamisteede ja urogenitaalsete tampoonide säilitusmeediumit võib kasutada ilma eeltötluseta. Kui tampoon ei ole eemaldatud, vajutage tampoon vastu katsuti külge, et vedelik välja suruda. Samal ajal tuleks proovi jäänud lima koguda tampoonile. Seejärel tuleb tampoonist ja limast jääkvedelik välja väänata vajutades tampooni vastu katsuti külge. Lõpuks tuleb tampoon koos limaga eemaldada ja kõrvaldada. Kui proovid on viskoossed, sooritage enne proovi viimist seadmesse QIASymphony SP vedeldusetapp (vt eespool "Viskoossed või limased proovid"). Kui algmaterjali ei ole piisavalt, pipeteerige puhvrit ATL (ATL) transpordimeediumisse, et reguleerida nõutavat minimaalset algmahtu ja keerutage proovi katsutis 15–30 sekundit (kui transpordimeedium sisaldab tampooni, tehke seda enne tampooni eemaldamist). Seadmevälise lüüsimise ettevalmistamiseks kasutage proovina 800 µl eeltöödeldud materjali.

* Sputasool (Oksoid, kat. nr SR0233, www.oxoid.com) või diitotreitol (DTT).

† See ei ole täielik tarnijate loend.

Muudatuste ajalugu

Dokumendi muudatuste ajalugu	
R2 12/2017	QIAsymphony tarkvaraversiooni 5.0 värskendus

Ajakohase litsentsiteabe ja tootespetsiifilised lahtiütlusted leiate vastavast QIAGEN®-i komplekti käsiraamatust või kasutusjuhendist. QIAGEN-i komplekti käsiraamatud ja kasutusjuhendid on saadaval veebilehel www.qiagen.com või tellimisel QIAGEN-i tehniliselt teenistuselt või kohalikult müügiesindajalt.

Kaubamärgid: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group). Käesolevas dokumendis kasutatud registreeritud nimetused, kaubamärgid jne loetakse seadusega kaitstuks ka juhul, kui need pole eraldi kaubamärkidena tähistatud. 12/2017 HB-0301-S31-002 © 2017 QIAGEN, kõik õigused kaitstud.

Tellimine www.qiagen.com/shop | Tehniline tugi support.qiagen.com | Veebisait www.qiagen.com