

Joulukuu 2017

QIASymphony[®] SP -protokollalomake

Complex400_V4_DSP -protokolla

Tämä asiakirja on Complex400_V4_DSP QIASymphony SP -protokollalomake, R2, QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -tarvikesarjalle, versio 1.

Yleistä

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

Sarja	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -tarvikesarja
Näyttemateriaali	Hengitysteiden ja urogenitaali alueen näytteet
Protokollan nimi	Complex400_V4_DSP
Analyysin kontrollin oletusasetus	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Muokattavissa	Eluaattitilavuus: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Tarvittava ohjelmistoversio	Versio 4.0 tai uudempi

Sample (Näyte) -lokero

Näytetyyppi	Hengitysteiden näytteet (BAL-neste, kuivat näytetikut, kuljetusaine, aspiraattit, yskös) ja urogenitaaliset näytteet (virtsa, kuljetusaine)
Näyttemäärä	Käytetyn näyteputken mukaan. Lisätietoja on osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Ensisijaiset näyteputket	Lisätietoja on osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Toissijaiset näyteputket	Lisätietoja on osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Asettimet	Käytetyn näyteputken mukaan. Lisätietoja on osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Muu	Kantaja-RNA:n ja AVE-puskurin seos tarvitaan. Sisäisen kontrollin käyttö on valinnaista.

Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokero

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

Waste (Jäte) -lokero

Yksikkölaatikon pidike 1-4	Tyhjät yksikkölaatikot
Jätepussin pidike	Jätepussi
Nestejätepullon pidike	Nestejätepullo

Eluate (Eluaatti) -lokero

Eluaattiteline (suositus: aukko 1, jäähdytyspaikka)

Lisätietoja on osoitteessa
www.qiagen.com/goto/dsphandbooks

Tarvittavat laboratoriotarvikkeet

	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*	Kolme erää, 72 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl†‡	34	60	86	112
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1500 µl†‡	123	205	295	385
Näytteen valmistelukasetit§	18	36	54	72
8-sauvaiset kannet¶	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.

† Suodatinkärkiä on 32 kärkitelinettä kohti.

‡ Tarvittavien suodatinkärkien määrä sisältää suodatinkärjet yhteen tarvikkeiden tarkistukseen reagenssikasettia kohti.

§ Näytteen valmistelukasetteja on 28 yksikkölaatikkoa kohti.

¶ 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 eluutioliuoksen 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.

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.

Suosittelimme 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

FIX-laboratoriotarvikkeiden käyttäminen

Kun näytteiden siirrossa käytetään nestetason tunnistusta (Liquid-Level Detection, LLD), voidaan käyttää ensi- ja toissijaisia putkia. Silloin putkissa tarvitaan tiettyjä 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.

Osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks on myös 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 näyteen valmistelussa.

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

Näytemateriaalin valmistelu

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

Virtsat

Virtsat voidaan käsitellä ilman muuta esikäsittelyä. 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 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 500 µl (luettelonumero 939016). Siirrä näyte 2 ml:n Sarstedt-putkeen (luettelonumero 72.693 tai 72.694). Aseta näyte putkialustalle ja käsittele näyte Complex400_V4_DSP-protokollan mukaan tarvittavilla FIX-laboratoriotarvikkeilla.

Genomisen DNA:n eristäminen grampositiivisista bakteereista

Joidenkin grampositiivisten bakteerien DNA:n puhdistusta voidaan parantaa entsyymaattisella esikäsittelyllä ennen näytteen siirtämistä QIASymphony SP -laitteeseen ja Complex400_V4_DSP-protokollan aloittamista.

1. Pelletoi bakteereita käyttämällä sentrifugissa 5 000 x g 10 minuuttia.
2. Suspendoi bakteeripelletti sopivassa entsyymiliuoksessa (500 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 Complex400_V4_DSP-protokollaa tarvittavilla FIX-laboratoriotarvikkeilla.

Viskoosit tai limaiset näytteet

Jotkin näytteet (kuten yskökset ja hengitysteiden aspiraatiitit) 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 alikvoorit käytön jälkeen.

2. Inkuboi 37 °C:n lämpötilassa, kunnes näytteen viskositeetti soveltuu pipetointiin.
3. Siirrä vähintään 500 µl näytettä 2 ml:n Sarstedt-putkeen (luettelonumero 72.693 tai 72.694). Käsittele näyte Complex400_V4_DSP-protokollan mukaan.

Kuivatut ruumiinnesteiden ja eritteiden näytetikut

1. Upota kuivatun näytetikun kärki ATL-puskuriin (ATL) 750 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 500 µl näytettä 2 ml:n Sarstedt-putkeen (luettelonumero 72.693 tai 72.694). Käsittele näyte Complex400_V4_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 500 µl.

* Sputasol (Oxoid, luettelonumero SR0233, 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 näytetikon 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 näytetikon 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 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, 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, vaikka niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.
12/2017 HB-0301-S28-002 © 2017 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

Tilaukset www.qiagen.com/shop | Tekninen tuki support.qiagen.com | Verkkosivusto www.qiagen.com