

Aralık 2017

QIAasymphony® SP Protokol Sayfası

Complex800_OBL_V4_DSP protokolü

Bu belge, QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versiyon 1 için Complex800_OBL_V4_DSP QIAasymphony SP Protokol Sayfası, R2'dir.

Genel bilgiler

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kitinin, in vitro tanı kullanımına yönelik olması amaçlanmıştır.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kiti
Örnek materyali	Solunum örnekleri ve ürogenital örnekler
Protokol adı	Complex800_OBL_V4_DSP
Varsayılan Analiz Kontrol Seti	ACS_Complex800_OBL_V4_DSP
Düzenlenebilir	Elüzyon hacmi: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Gereken yazılım versiyonu	Versiyon 4.0 veya üstü

"Sample" (Örnek) çekmecesi

Örnek tipi	Solunum örnekleri (BAL, kurutulmuş sürüntüler, taşıma ortamı, aspiratlar, tükürük) ve ürogenital örnekler (idrar, taşıma ortamı)
Örnek hacmi	Kullanılan örnek tüpü türüne bağlı olarak; daha fazla bilgi için www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresine bakın
Primer örnek tüpleri	Daha fazla bilgi için www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresine bakın
Sekonder örnek tüpleri	Daha fazla bilgi için www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresine bakın
İnsertler	Kullanılan örnek tüpü türüne bağlı olarak; daha fazla bilgi için www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresine bakın
Diğer	Taşıyıcı RNA-Tampon AVE karışımı gereklidir; dahili kontrol kullanımı isteğe bağlıdır

"Reagents and Consumables" (Reaktifler ve Sarf Malzemeleri) çekmecesi

Pozisyon A1 ve/veya A2	Reaktif kartuşu (Reagent cartridge, RC)
Pozisyon B1	n/a
Uç askı tutucu 1-17	Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl
Uç askı tutucu 1-17	Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl
Ünite kutusu tutucu 1-4	Örnek hazırlık kartuşlarını içeren ünite kutuları
Ünite kutusu tutucu 1-4	8 Rod Kılıfları içeren ünite kutuları

n/a = uygulanamaz.

"Waste" (Atık) çekmecesi

Ünite kutusu tutucu 1-4	Boş ünite kutuları
Atık torbası tutucu	Atık torbası
Sıvı atık şişesi tutucu	Sıvı atık şişesi

"Eluate" (Elüat) çekmecesi

Elüsyon askısı (yuva 1, soğutma pozisyonu kullanıldığını öneririz)	Daha fazla bilgi için www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresine bakın
--	---

Gerekli plastik gereçler

	Bir grup, 24 örnek*	İki grup, 48 örnek*	Üç grup, 72 örnek*	Dört grup, 96 örnek*
Tek kullanımlık filtre uçları, 200 µl [†]	96	96	128	128
Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl ^{††}	128	192	224	288
Örnek hazırlama kartuşları [§]	18	36	54	72
8-Rod Kılıfları [¶]	3	6	9	12

* Bir adetten fazla envanter taraması yapılması ek tek kullanımlık filtre uçları gerektirir. Grup başına 24'ten az örnek kullanılması, çalışma başına gereken tek kullanımlık uç sayısını azaltır.

[†] Uç askısı başına 32 filtre ucu mevcuttur.

^{††} Gereken filtre ucu sayısına reaktif kartuşu başına 1 envanter taraması için filtre uçları dahildir.

[§] Ünite kutusu başına 28 örnek hazırlama kartuşu vardır.

[¶] Ünite kutusu başına on iki 8 Rod Kılıfı vardır.

Not: Verilen filtre ucu sayısı ayarlara bağlı olarak dokunmatik ekranda gösterilen rakamlardan farklı olabilir, örneğin grup başına kullanılan dahili kontrol sayısı.

Seçili elüsyon hacmi

Seçili elüsyon hacmi (µl)*	Başlangıç elüsyon hacmi (µl) [†]
60	90
85	115
110	140

* Dokunmatik ekranda seçilen elüsyon hacmi. Bu son elüsyon tüpünde minimum erişilebilir elüat hacmidir.

[†] Elüsyon solüsyonunun başlangıç hacmi, gerçek elüat hacminin seçili hacimle aynı olmasını sağlamak için gereklidir.

Dahili kontrol–taşıyıcı RNA (CARRIER)–Tampon AVE (AVE) karışımlarının hazırlanması

Seçili elüsyon hacmi (µl)	Stok taşıyıcı RNA (CARRIER) hacmi (µl)	Dahili kontrol hacmi (µl)*	Tampon AVE (AVE) hacmi (µl)	Örnek başına nihai hacim (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Dahili kontrol miktarı hesaplaması başlangıç elüsyon hacimlerini temel alır. Ek boşluk hacmi, kullanılan örnek tüpü türüne göre değişiklik gösterir; daha fazla bilgi için www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresine bakın.

Not: Tabloda gösterilen değerler, 0,1 µl dahili kontrol/µl elüat gerektiren aşağı doğru test izleme için dahili kontrol–taşıyıcı RNA (CARRIER) karışımı hazırlamaya yöneliktir.

Cihaz dışı lizis

Kimyasallarla çalışırken, daima uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için, ürün tedarikçisinden elde edilebilecek uygun malzeme güvenlik veri sayfalarına (MSDS'ler) başvurun.

QIASymphony Complex protokolleri 4 adımdan oluşur: lizis, bağlama, yıkama ve elüsyon. Bazı örnekler için manuel olarak lizis gerçekleştirmek yararlıdır, örneğin, patojenlerin biyogüvenlik kabininde inaktivasyonu için. Complex800_OBL_V4_DSP protokolü, manuel lizisin Complex800_V6_DSP protokolü için yapılabenzer biçimde uygulanmasına olanak sağlar. Ön muameleye tabi tutulmuş örnekler QIASymphony SP'ye aktarılır ve Complex800_OBL_V4_DSP protokolü ile işlenir.

Not: Complex800_OBL_V4_DSP protokolü Tampon ACL ve Tampon ATL gerektirir. Tampon ACL (kat. no. 939017) ve Tampon ATL (ATL) (kat. no. 939016), QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kitinin parçaları değildir ve ayrı olarak sipariş edilmelidir.

Manuel lizis

1. 4,5 ml tüp (Nunc CryoTube 12,5 x 92 mm, 4,5 ml polipropilen tüp, Nunc kat. no. 363452) içine 80 µl proteinaz K, 295 µl Tampon ATL (ATL), 120 µl Taşıyıcı RNA Dahili Kontrol Karışımı ve 560 µl Tampon ACL pipetleyin.

Not: Birden fazla örneğin manuel lizis kullanılarak işleneceği durumda, bu solüsyonun bir stok solüsyonu hazırlanabilir. Bir örnek için gereken hacimleri, toplam işlenecek örnek sayısı ile çarpın ve 2 ekstra örneğin eşdeğerine ek hacim ekleyin. Karıştırmak için tüpü birkaç kez baş aşağı çevirin, her bir örnek için 4,5 ml tüpe 1055 µl aktarın ve ardından her bir örnek için adım 4 ile devam edin.

2. Kapağı kapatın ve tüpü 5 kez baş aşağı çevirerek karıştırın.
3. Kapağın içindeki damlaları gidermek için tüpü kısa bir süre santrifüjleyin.
4. Tüpe 800 µl örnek ekleyin, kapağı kapatın ve puls vorteks kullanarak 10 saniye karıştırın.
5. Tüpü 68°C'de 15 dakika (±1 dakika) inkübe edin.
6. Kapağın içindeki damlaları gidermek için tüpü kısa bir süre santrifüjleyin. Uygun örnek tüpleri için parçaları tüp taşıyıcısına yerleştirin ve örnek tüplerini (kapaksız) yükleyin.

Örnek materyalinin hazırlanması

İdrar

İdrar, ilave bir ön muamele olmadan işlenebilir. Sistem, koruyucu madde içermeyen saf idrar örnekleri için optimize edilmiştir. Bakteriyel patojenler için hassasiyeti artırmak amacıyla örnekler santrifüjlenebilir. Üst fazı attıktan sonra, pellet en az 800 µl Tampon ATL (ATL) (kat. no. 939016) içinde tekrar süspansiyon haline getirilebilir. Cihaz dışı lizisi hazırlamak için örnek olarak 800 µl önceden işlenmiş materyal kullanın.

Genomik DNA'nın Gram-pozitif bakterilerden izolasyonu

DNA saflaştırma işlemi, bazı Gram-pozitif bakteriler için, örneği QIAAsymphony SP'ye aktarmadan ve Complex800_OBL_V4_DSP protokolünü başlatmadan önce enzimatik ön muamele ile geliştirilebilir.

1. Bakterileri 5000 x g'de 10 dakika santrifüjleyerek pellet haline getirin.
2. Bakteriyel pelleti, 800 µl uygun enzim solüsyonunda (20 mg/ml lizozim ya da 200 µg/ml lizostafin; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; %1,2 Triton X--100) bekletin.
3. 37°C'de en az 30 dakika (±2 dakika) inkübe edin.
4. Kapağın içindeki damlaları gidermek için tüpü kısa süre santrifüjleyin.
5. Cihaz dışı lizisi hazırlamak için örnek olarak 800 µl önceden işlenmiş materyal kullanın.

Visköz ya da müköz örnekler

Bazı örnekler (örn., tükürük, solunum aspiratları) visköz olabilir ve pipetlemeyi sağlamak için sıvılaştırma gerektirir. Düşük viskoziteli örnekler ek hazırlık gerektirmezler. Orta ile yüksek arası viskoziteye sahip örnekler şu şekilde hazırlanmalıdır:

- 1:1 örneği Sputasol*† (Oxoid, kat. no. SR0233) ya da %0,3 (a/h) DTT ile seyreltin.
Not: %3,0 DTT solüsyonu önceden hazırlanabilir ve uygun alikotlarda –20°C'de saklanabilir. Çözdürülmüş alikot kullanımdan sonra atılmalıdır.
- Örnek viskozitesi pipetleme için uygun hale gelinceye kadar 37°C'de inkübe edin.
- Cihaz dışı lizisi hazırlamak için örnek olarak 800 µl önceden işlenmiş materyal kullanın.

Kurutulmuş vücut sıvısı ve sekresyon sürüntüleri

- Kurutulmuş sürüntü ucunu 1050 µl Tampon ATL (ATL) (kat. no. 939016) içerisine batırın ve 56°C'de 15 dakika (± 1 dakika) sürekli karıştırarak inkübe edin. Karıştırmanın mümkün olmadığı durumda, inkübasyondan önce ve sonra en az 10 saniye vorteksleyin.
- Sürüntüyü temizleyin ve sürüntüyü tüpün iç kısmına doğru bastırarak tüm sıvıyı çıkarın.
- Cihaz dışı lizisi hazırlamak için örnek olarak 800 µl önceden işlenmiş materyal kullanın.
Not: Bu protokol, pamuk veya polietilen sürüntüler için optimize edilmiştir. Diğer sürüntüleri kullanırken, örnek materyali olarak en az 800 µl'nin kullanılabilmesini sağlamak için Tampon ATL (ATL) hacmini ayarlamak gerekli olabilir.

Solunum sürüntüleri ya da ürogenital sürüntüler

Solunum sürüntüleri ya da ürogenital sürüntüler için depolama ortamları, ön muamele olmadan kullanılabilir. Sürüntü giderilmediyse, sıvıyı çıkarmak için sürüntüyü tüpün kenarına doğru bastırın. Numunede bulunan herhangi bir fazla mukus, bu kez sürüntü üzerinde toplanarak çıkarılmalıdır. Daha sonra, mukus ve sürüntüden kaynaklanan bütün kalıntı sıvılar sürüntüyü tüpün kenarına doğru bastırma yoluyla çıkarılmalıdır. Son olarak, sürüntü ve mukus çıkarılmalı ve atılmalıdır. Örneklerin visköz olduğu durumda, örneği QIASymphony SP'ye aktarmadan önce sıvılaştırma adımı uygulayın (yukarıdaki "Visköz ya da müköz örnekler" kısmına bakın). Eğer yeterli başlangıç materyali yoksa, gerekli minimum başlangıç hacmini ayarlamak için taşıma besi yerine Tampon ATL (ATL) pipetleyin ve örneği tüpte 15-30 saniye vorteksleyin (taşıma besi yeri sürüntüyü içeriyorsa, bu adımı sürüntüyü gidermeden önce uygulayın). Cihaz dışı lizisi hazırlamak için örnek olarak 800 µl materyal kullanın.

* Sputasol (Oxoid, kat. no. SR0233, www.oxoid.com) ya da ditiyotretol (DTT).

† Bu, sağlayıcıların tam bir listesi değildir.

Revizyon geçmiři

Belge revizyon geçmiři	
R2 12/2017	QIASymphony Yazılımı versiyon 5.0

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne özel ret beyanları için ilgili QIAGEN® kiti el kitabı veya kullanıcı el kitabına bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Technical Services veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Ticari markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Bu belgede geçen kayıtlı isimler, ticari markalar, vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalar tarafından korunmaktadır. 12/2017 HB-0301-S31-002 © 2017 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

Sipariş www.qiagen.com/shop | Teknik Destek support.qiagen.com | Web Sitesi www.qiagen.com