

2017. gada decembris

QIA Symphony[®] SP protokola lapa

Complex400_OBL_V4_DSP protokols

Šis dokuments ir Complex400_OBL_V4_DSP QIA Symphony SP protokola lapa, R2, paredzēts QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, 1. versija.

Vispārīga informācija

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

Komplekts	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Parauga materiāls	Elpceļu un uroģenitālie paraugi
Protokola nosaukums	Complex400_OBL_V4_DSP
Noklusējuma testa kontroles komplekts	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
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	N/A
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

n/a = neattiecas.

“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) atvilktnē

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†‡	96	96	128	128
Vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi, 1500 µl†‡	128	192	224	288
Paraugu sagatavošanas kasetnes§	18	36	54	72
8 stobriņu pārsegi¶	3	6	9	12

* Ja tiek veikta vairāk nekā viena inventāra skenēšana, nepieciešami papildu vienreizējas lietošanas filtru uzgaļi. Ja uz partiju tiek izmantoti mazāk par 24 paraugiem, samazinās arī katrā piegājienu 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 skārienukrānā 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

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

† Sākotnējais elūcijas šķidrums 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.

Neiebūvēta līze

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

QIAsymphony Complex protokolos ietilpst 4 darbības: līze, fiksācija, mazgāšana, skalošana. Dažiem paraugiem ir lietderīgi veikt līzes procesu manuāli, piemēram, lai deaktivizētu patogēnus biodrošības kabinetā. Complex400_OBL_V4_DSP protokols sniedz iespēju veikt manuālu līzi tāpat kā Complex400_V4_DSP protokols. Iepriekš apstrādāti paraugi tiek pārvietoti uz QIAsymphony SP un apstrādāti ar Complex400_OBL_V4_DSP protokolu.

Piezīme. Complex400_OBL_V4_DSP protokolam nepieciešams buferšķīdums ACL un buferšķīdums ATL (ATL). Buferšķīdums ACL (kat. Nr. 939017) un buferšķīdums ATL (ATL) (kat. Nr. 939016) neietilpst QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit un ir jāpasūta atsevišķi.

Manuāla līze

1. Pipetējiet 40 µl proteīnāzes K, 165 µl buferšķīduma ATL (ATL), 120 µl nēsātāja RNS iekšējās kontroles maisījuma un 315 µl buferšķīduma ACL 2 ml Sarstedt stobriņā (kat. Nr. 72.693 vai 72.694).

Piezīme. Ja vairāk nekā viens paraugs tiks apstrādāts, izmantojot manuālu līzi, iespējams sagatavot izejas šķīdumu. Vienkārši reiziniet vienam paraugam nepieciešamos tilpumus ar kopējo apstrādājamo paraugu skaitu un iekļaujiet papildu tilpumu, kas līdzvērtīgs 2 papildu

paraugiem. Apgrīziet stobriņu vairākas reizes, lai sajauktu, pārvietojiet 640 µl uz 2 ml Sarstedt stobriņu katram paraugam, pēc tam turpiniet ar 4. darbību katram paraugam.

2. Aizveriet vāku un sajauciet, apgrīžot stobriņu 5 reizes.
3. Īslaicīgi centrifugējiet stobriņu, lai likvidētu pilienus vāka iekšpusē.
4. Pievienojiet 400 µl paraugu stobriņā, aizveriet vāku un sajauciet, skalīnot 10 sekundes.
5. Inkubējiet stobriņus 15 minūtes (\pm 1 minūte) 68°C temperatūrā.
6. Īslaicīgi centrifugējiet stobriņu, lai likvidētu pilienus vāka iekšpusē.
7. Ievietojiet atbilstošo paraugu stobriņu ieliktnus stobriņu glabātājā un ielādējiet paraugu stobriņus (bez vākiem).

Parauga materiāla sagatavošana

Urīns

Urīnu iespējams apstrādāt bez iepriekšējas apstrādes. Sistēma ir optimizēta tīra urīna paraugiem, kas nesatur konservantus. Lai palielinātu bakteriālo patogēnu jutīgumu, paraugu iespējams centrifugēt. Pēc supernatanta izmešanas granulu iespējams resuspendēt vismaz 400 µl buferšķīduma ATL (ATL) (kat. Nr. 939016). Izmantojiet 400 µl iepriekš apstrādāta materiāla kā paraugu, lai sagatavotos neiebūvētajai līzei.

Genoma DNS izolēšana no grampozitīvās baktērijas

DNS attīrīšanu iespējams uzlabot atsevišķām grampozitīvām baktērijām, izmantojot fermentatīvu iepriekšējo apstrādi pirms parauga pārvietošanas uz QIASymphony SP un Complex400_OBL_V4_DSP protokola uzsākšanas.

1. Granulējiet baktēriju, veicot centrifugēšanu ar ātrumu 5000 x g 10 minūtes.
2. Suspendējiet bakteriālo granulu 400 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 (\pm 2 minūtes).
4. Īslaicīgi centrifugējiet, lai likvidētu pilienus vāka iekšpusē.
5. Izmantojiet 400 µl iepriekš apstrādāta materiāla kā paraugu, lai sagatavotos neiebūvētajai līzei.

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 jā sagatavo šādi:

1. Izšķīdiniet paraugu 1:1 ar Sputasol*† (Oxoid, kat. Nr. SR0233) vai 0,3% (w/v) DTT.
Piezīme. 0,3 % DTT šķīdumu iespējams sagatavot iepriekš un uzglabāt –20°C temperatūrā atbilstošās alikvotās. Izkusušās alikvotas pēc izmantošanas ir jāizmet.
2. Inkubējiet 37°C temperatūrā, līdz parauga viskozitāte ir piemērota pipetēšanai.
3. Izmantojiet 400 µl iepriekš apstrādāta materiāla kā paraugu, lai sagatavotos neiebūvētajai līzei.

Sausi ķermeņa šķidrums un sekrētu uztriepes kociņi

1. Iegremdējiet sausā uztriepes kociņa galu 650 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 šķidrums, spiežot kociņu pret stobriņa iekšpusi.
3. Izmantojiet 400 µl iepriekš apstrādāta materiāla kā paraugu, lai sagatavotos neiebūvētajai līzei.

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 400 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 šķidrums. 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). Izmantojiet 400 µl materiāla kā paraugu, lai sagatavotos neiebūvētajai līzei.

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-S29-002 © 2017 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

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