
Detsember 2017

QIASymphony[®] SP protokollileht

Protokoll Complex200_V6_DSP

See dokument on Complex200_V6_DSP QIASymphony SP protokollileht, R2, komplekti QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit, versioon 1 jaoks.

Üldteave

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

Komplekt	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Proovimaterjal	Hingamisteede ja urogenitaalproovid
Protokolli nimetus	Complex200_V6_DSP
Analüüsi kontrolli vaikekomplekt	ACS_Complex200_V6_DSP_default_IC
Muudetav	Eluaadi maht: 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	Puhver ATL (ATL)
Otsikute statiivi hoidik 1–17	Ühekordsed filtriotsakud, 200 µl
Otsikute statiivi hoidik 1–17	Ühekordsed filtriotsakud, 1500 µl
Üksuse karbi hoidik 1–4	Üksuse karbid, mis sisaldavad proovi ettevalmistamise kassette
Üksuse karbi hoidik 1–4	Üksuse karbid, mis sisaldavad 8 vardaga kaasi

Sahtel „Waste“ (Jäätmed)

Üksuse karbi hoidik 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 ^{††}	34	60	86	112
Ühekordsed filtriotsakud, 1500 µl ^{††}	123	205	295	385
Proovi ettevalmistamise kassetid [§]	18	36	54	72
8 vardaga kaaned [¶]	3	6	9	12

* Kui kasutatakse rohkem kui ühte sisekontrolli ühe partii kohta ja kui teostatakse üle ühe inventuurskannimise, läheb vaja täiendavaid ühekordselt kasutatavaid 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 elueerimismaht

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

* Puutekraanil valitud elueerimismaht. See on väiksem võimalik eluaadi kogus viimases elueerimiskatsutis.

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

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.

Sisekontrolli-kandja RNA (CARRIER)-puhver AVE (AVE) segu sisaldavad katsutid asetatakse katsutihoidikusse. Katsutihoidik, mis sisaldab sisekontrolli-kandja RNA (CARRIER)-puhver AVE (AVE) segu(sid), tuleb asetada proovisahtli pesasse A.

Sõltuvalt töödeldavate proovide arvust soovime sisekontrolli lahjendamiseks kasutada 2 ml katsuteid (Sarstedt, kat. nr 72.693 või 72.694) või 14 ml 17 x 100 mm polüstüreenist ümmarguste põhjaga katsuteid (Becton Dickinson, kat. nr 352051), nagu on kirjeldatud järgnevas tabelis. Mahu võib jagada kahte või enamasse katsutisse.

Sisekontrolli segu mahu arvutamine

Katsuti tüüp	Nimetus QIASymphony puutekraanil	Sisekontrolli-kandja RNA (CARRIER) - puhver AVE (AVE) segu arvutamine katsuti kohta
Korgiga 2 ml mikrokatsuti; 2 ml mikrokatsuti, PP, SEELIKUGA, (Sarstedt, kat. nr 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 120 µl) + 360 µl*
Korgiga 2 ml mikrokatsuti; 2 ml mikrokatsuti, PP, SEELIKUTA, (Sarstedt, kat. nr 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 120 µl) + 360 µl*
Katsuti 14 ml, 17 x 100 mm polüstüreenist ümara põhjaga (Becton Dickinson, katalooginr 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	(n x 120 µl) + 600 µl†

* Kasutage seda valemit vajaliku sisekontrolli segu mahu arvutamiseks (n = proovide arv; 120 µl = sisekontrolli-kandja RNA (CARRIER)-puhver AVE (AVE) segu maht; 360 µl = vajalik tühimaht katsuti kohta). Nt 12 proovi puhul (n = 12): (12 x 120 µl) + 360 µl = 1800 µl. Katsutit tohib täita kuni 1,9 ml (st kuni 12 proovi katsuti kohta). Kui käideldakse rohkem kui 12 proovi, kasutage lisakatsuteid, veendudes et lisatakse vajalik tühimaht katsuti kohta.

† Kasutage seda valemit vajaliku sisekontrolli-kandja RNA (CARRIER)-puhver AVE (AVE) segu mahu arvutamiseks (n = proovide arv; 120 µl = sisekontrolli-kandja RNA (CARRIER)-puhver AVE (AVE) segu maht; 600 µl = vajalik tühimaht katsuti kohta). Nt 96 proovi puhul (n = 96): (96 x 120 µl) + 600 µl = 12120 µl.

Vajalikke sisestataavaid osi vt www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Laborivara FIX kasutamine

Vedelikutaseme tuvastamine (liquid-level detection, LLD) proovide edastamisel võimaldab kasutada primaarseid ja sekundaarseid katsuteid. Kuid see vajab vastavates katsutites teatud tühimahtu. Tühimahtude minimeerimiseks tuleks kasutada sekundaarseid katsuteid ilma vedelikutaseme tuvastamiseta. Saadaval on spetsiaalne labori tarkvararakendus FIX (nt SAR_FIX_ # 72.694 T2.0 ScrewSkirt), mida saab valida ka QIASymphony SP puutekraanil. See katsuti/hoidiku tüüp seab aspiratsioonipiiranguid. Proovi aspireeritakse katsutis teatud kõrgusel, mis määratakse kindlaks edastatava proovi mahu järgi. Seepärast on oluline veenduda, et kasutatakse laborivara loendis näidatud mahtu. Laborivara loendid on allalaetavad aadressil www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Proovikatsutid, mida saab kasutada vedeliku taseme tuvastamisega või ilma sellela, ja nõutavad proovimahud on samuti loetletud aadressil www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Ärge kasutage mahtusid, mis on nõutavast mahust suuremad või väiksemad, kuna see võib proovi ettevalmistamisel põhjustada vigu.

Katsuteid vedelikutaseme tuvastamiseks ja katsuteid, mis ei ole mõeldud vedelikutaseme tuvastamiseks, võib käidelda ühes partiiis/töökäigus.

Proovimaterjali ettevalmistamine

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

Uriin

Uriini saab käidelda ilma täiendava eeltötluseta. Proov viiakse 2 ml Sarstedti katsutisse (kat. nr 72.693 või 72.694) ja asetatakse katsutihoidikusse. Alternatiivina võib kasutada primaarkatsuteid. Nõutav minimaalne algmaht võib varieeruda sõltuvalt kasutatavast primaarkatsutist. Ühilduvad primaar- ja sekundaarkatsutite formaadid, sealhulgas iga protokolliga jaoks nõutav minimaalne algmaht, on loetletud aadressil www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. 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 300 µl puhvriga ATL (ATL) (kat. nr 939016). Viige 220 µl proovi üle 2 ml Sarstedti katsutisse (kat. nr 72.693 või 72.694). Asetage proov katsutihoidikusse ja käideldge proovi, kasutades protokolliga Complex200_V6_DSP ja nõutavat laboritarkvara FIX.

Gram-positiivsete bakterite genoomse DNA eraldamine

Enne proovide üleviimist QIASymphony SP-sse ja protokolliga Complex200_V6_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. Suspendeerige bakterisade 300 µl sobivas ensüümilahuses (20 mg/ml lüsoosüümi või 200 µg/ml lüsofasiini 20 mM Tris · HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA, 1,2% Triton X - 100).
3. Inkubeerige temperatuuril 37°C vähemalt 30 minutit (± 2 minutit).
4. Tsentrifugeerige katsutit lühidalt, et eemaldada tilgad kaane sisepinnalt.
5. Viige proov 2 ml Sarstedti katsutisse (kat. nr 72.693 või 72.694), asetage proov katsutihoidikusse ja jätkake protokolliga Complex200_V6_DSP, kasutades selleks vajalikku laboritarkvara FIX.

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% (mass/maht) DTT lahust saab ette valmistada ja säilitada alikvootides temperatuuril -20°C. Pärast kasutamist visake sulanud alikvoodid ära.

2. Inkubeerige temperatuuril 37°C, kuni proovi viskoossus sobib pipeteerimiseks.
3. Viige vähemalt 300 µl proovi üle 2 ml Sarstedti katsutisse (kat. nr 72.693 või 72.694). Käideldge proove kasutades protokoll Complex200_V6_DSP.

Kuivatatud kehavedelike ja sekreetide tampoonid

1. Kastke kuivanud tampooni ots 550 µl ATL puhvrissse (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 seinu.
3. Viige vähemalt 300 µl proovi üle 2 ml Sarstedti katsutisse (kat. nr 72.693 või 72.694). Käideldge proove kasutades protokoll Complex200_V6_DSP.

Märkus. See protokoll on optimeeritud puuvill- või polüetüleen-tampoonidele. Muude tampoonide kasutamisel võib olla vajalik puhvri ATL (ATL) mahu reguleerimine, et tagada vähemalt 300 µl proovimaterjali olemasolu.

Hingamisteede ja urogenitaalsed tampoonid

Hingamisteede ja urogenitaalsete tampoonide säilitusmeediumit võib kasutada ilma eeltöötluseta. Kui tampoon ei ole eemaldatud, vajutage tampoon vastu katsuti külge, et vedelik välja suruda. Samal ajal tuleks proovi jäänud lima koguda tampoonile. Seejärel tuleb tampooni ja limasse jäänud ülejäänud vedelik 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). Viige proov 2 ml Sarstedti katsutisse (kat. nr 72.693 või 72.694) ja asetage katsutihoidikusse. Alternatiivina võib kasutada primaarkatsuteid. Nõutav minimaalne algmaht võib varieeruda sõltuvalt kasutatavast

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

† See ei ole täielik tarnijate loend.

primaarkatsutist. Ühilduvad primaar- ja sekundaarkatsutid, sealhulgas iga protokolliga jaoks nõutav minimaalne alamaht, on loetletud aadressil www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .

Muudatuste ajalugu

Dokumendi muudatuste ajalugu	
R2 12/2017	QIAsymphony tarkvaraversiooni 5.0 värskendus

Ajakohase litsentsiteabe ja tootespetsiifilised lahtiütled 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 kohalikul 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-S26-002 © 2017 QIAGEN, kõik õigused kaitstud.

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