

Aralık 2017

QIAAsymphony® SP Protokol Sayfası

Complex400_V4_DSP protokolü

Bu belge, QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versiyon 1 için Complex400_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	Complex400_V4_DSP
Varsayılan Analiz Kontrol Seti	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Düzenlenebilir	Elüat 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	Buffer (Tampon) ATL (ATL)
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

"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†‡	34	60	86	112
Tek kullanımlık filtre uçları, 1500 µl†‡	123	205	295	385
Örnek hazırlama kartuşları§	18	36	54	72
8-Rod Kılıfları¶	3	6	9	12

* Grup başına birden fazla dahili kontrol kullanılması ve birden fazla envanter taraması yapılması, ilave tek kullanımlık filtre uçları gerektirir. Grup başına 24'ten az örnek kullanılması, çalışma başına gereken tek kullanımlık filtre ucu 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.

Dahili kontrol-taşıyıcı RNA (CARRIER)-Tampon AVE (AVE) karışımları içeren tüpler bir tüp taşıyıcıya yerleştirilir. Dahili kontrol-taşıyıcı RNA (CARRIER)-Tampon AVE (AVE) karışımını/karışımlarını içeren tüp taşıyıcı, örnek çekmecesinde yuva A içine yerleştirilmelidir.

İşlenecek olan örneklerin sayısına bağlı olarak, dahili kontrolün seyreltilmesi için, aşağıdaki tabloda tanımlandığı şekilde, 2 ml'lik tüpler (Sarstedt, kat. no. 72.693 ya da 72.694) veya 14 ml 17 x 100 mm polistiren, yuvarlak tabanlı tüpler (Becton Dickinson, kat. no. 352051) kullanılması önerilir. Hacim, 2 ya da daha fazla tüpe bölünebilir.

Dahili kontrol karışımının hacmini hesaplama

Tüp tipi	QIAsymphony dokunmatik ekranında isim	Tüp başına dahili kontrol-taşıyıcı RNA (CARRIER)-Tampon AVE (AVE) karışımının hacminin hesaplanması
Kapaklı 2 ml mikrotüp; 2 ml mikrotüp, PP, ETEKLİ, (Sarstedt, kat. no. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 120 µl) + 360 µl*
Kapaklı 2 ml mikrotüp; 2 ml mikrotüp, PP, ETEKSİZ, (Sarstedt, kat. no. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 120 µl) + 360 µl*
14 ml, 17 x 100 mm polistiren yuvarlak tabanlı tüp (Becton Dickinson, kat.no. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	(n x 120 µl) + 600 µl†

* Gerekli dahili kontrol karışımı hacmini hesaplamak için bu denklemi kullanın (n = örnek sayısı; 120 µl = dahili kontrol-taşıyıcı RNA (CARRIER)-Tampon AVE (AVE) karışımı hacmi; 360 µl = her bir tüp için gerekli boşluk hacmi). Örneğin, 12 örnek için (n = 12): (12 x 120 µl) + 360 µl = 1800 µl. Tüpü 1,9 ml'den fazla doldurmayın (örn., tüp başına maksimum 12 örnek). 12'den fazla örneğin işleneceği durumda, tüp başına boşluk hacminin eklendiğinden emin olarak ilave tüpler kullanın.

† Gerekli dahili kontrol-taşıyıcı RNA (CARRIER)-Tampon AVE (AVE) karışımı hacmini hesaplamak için bu denklemi kullanın (n = örnek sayısı; 120 µl = dahili kontrol-taşıyıcı RNA (CARRIER)-Tampon AVE (AVE) karışımı hacmi; 600 µl = her bir tüp için gerekli boşluk hacmi). Örneğin, 96 örnek için (n = 96): (96 x 120 µl) + 600 µl = 12120 µl.

Gerekli parçalar için www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresine bakın.

FIX laboratuvar gereçlerinin kullanılması

Örnek aktarımı için sıvı seviyesi saptama (liquid-level detection, LLD) kullanılması, primer ve sekonder tüplerin kullanımına olanak sağlar. Fakat bu, ilgili tüplerde belirli ölü hacimler gerektirir. Ölü hacmi minimize etmek için sekonder tüpler sıvı seviyesi saptamasız kullanılmalıdır. QIAsymphony SP dokunmatik ekranından da seçilebilecek olan özel FIX laboratuvar gereçleri mevcuttur (örn., SAR_FIX_#72,694 T2.0 ScrewSkirt). Bu tüp/askı türü aspirasyon sınırlamaları getirir. Örnek, aktarılacak olan örneğin hacmiyle tanımlanan tüpte belirli bir yükseklikte aspire edilir. Bu nedenle laboratuvar gereçleri listesinde verilen hacmin kullanıldığından emin olunması şarttır. Laboratuvar gereçleri listeleri www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresinden indirilebilir.

Sıvı seviyesi saptama ile birlikte veya sıvı seviyesi saptamasız kullanılacak örnek tüplerinin ve gerekli örnek hacimlerinin listesi ayrıca www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresinde mevcuttur. Örnek hazırlama sırasında hatalara yol açabileceği için gerekli hacimden daha yüksek ya da daha düşük hacimler kullanmayın.

Sıvı seviyesi saptamaya yönelik tüpler ve sıvı seviyesi saptamaya yönelik olmayan tüpler, bir grup/çalışma içinde işlenebilir.

Örnek materyalinin hazırlanması

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 (material safety data sheets, MSDS'ler) başvurun.

İdrar

İdrar, ilave bir ön muamele olmadan işlenebilir. Örneği 2 ml Sarstedt tüpüne (kat. no. 72.693 ya da 72.694) aktarın ve örneği tüp taşıyıcısına yerleştirin. Alternatif olarak, primer tüpler kullanılabilir. Gerekli minimum başlangıç hacmi, kullanılan primer tüpe bağlı olarak değişebilir. Her bir protokol için gerekli minimum başlangıç hacmi dahil olmak üzere uyumlu primer ve sekonder tüp formatları listesi www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresinde mevcuttur. 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 500 µl Tampon ATL (ATL) (kat. no. 939016) içinde tekrar süspansiyon haline getirilebilir. Örneği 2 ml Sarstedt tüpüne (kat. no. 72.693 ya da 72.694) aktarın. Örneği tüp taşıyıcıya yerleştirin ve Complex400_V4_DSP protokolü ve gerekli FIX laboratuvar gereçlerini kullanarak işleyin.

Genomik DNA'nın Gram-pozitif bakterilerden izolasyonu

DNA saflaştırma işlemi, bazı Gram-pozitif bakteriler için, örneği QIASymphony SP'ye aktarmadan ve Complex400_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, 500 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. Örneği 2 ml Sarstedt tüpüne (kat. no. 72.693 ya da 72.694) aktarın, örneği tüp taşıyıcısına yerleştirin ve gerekli FIX laboratuvar gereçlerini kullanarak Complex400_V4_DSP protokolü ve ile devam edin.

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. 1:1 örneği Sputasol*† (Oxoid, kat. no. SR0233) ya da %0,3 (a/h) DTT ile seyreltin.
Not: %0,3 (a/h) DTT solüsyonu önceden hazırlanabilir ve -20°C'de alikotlar halinde saklanabilir. Çözdürülmüş alikotları kullandıktan sonra atın.
2. Örnek viskozitesi pipetleme için uygun hale gelinceye kadar 37°C'de inkübe edin.
3. Örneğin en az 500 µl'lik kısmını 2 ml Sarstedt tüpüne (kat. no. 72.693 ya da 72.694) aktarın. Örneği Complex400_V4_DSP protokolü ile işleyin.

Kurutulmuş vücut sıvısı ve sekresyon sürüntüleri

1. Kurutulmuş sürüntü ucunu 750 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.
2. Sürüntüyü temizleyin ve sürüntüyü tüpün iç kısmına doğru bastırarak tüm sıvıyı çıkarın.
3. Örneğin en az 500 µl'lik kısmını 2 ml Sarstedt tüpüne (kat. no. 72.693 ya da 72.694) aktarın. Örneği Complex400_V4_DSP protokolü ile işleyin.

Not: Bu protokol, pamuk veya polietilen sürüntüler için optimize edilmiştir. Diğer sürüntüleri kullanırken, örnek materyali olarak en az 500 µl'nin kullanılabilmesini sağlamak için Tampon ATL (ATL) hacmini ayarlamak gerekli olabilir.

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

† Bu, sağlayıcıların tam bir listesi değildir.

Taşıma ortamında saklanan 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). Örneği 2 ml Sarstedt tüpüne (kat. no. 72.693 ya da 72.694) aktarın ve örneği tüp taşıyıcısına yerleştirin. Alternatif olarak, primer tüpler kullanılabilir. Gerekli minimum başlangıç hacmi, kullanılan primer tüpe bağlı olarak değişebilir. Her bir protokol için gerekli minimum başlangıç hacmi dahil olmak üzere uyumlu primer ve sekonder tüplerin listesi www.qiagen.com/goto/dsphandbooks adresinde mevcuttur.

Revizyon geçmişi

Belge revizyon geçmişi	
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-S28-002 © 2017 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

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