

---

Detsember 2017

# QIASymphony<sup>®</sup> SP protokollileht

## Protokoll Complex400\_V4\_DSP

See dokument on Complex400\_V4\_DSP QIASymphony SP protokollileht, R2, komplekti QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit 1. versioon jaoks.

## Üldteave

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

<b>Komplekt</b>	QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
<b>Proovimaterjal</b>	Hingamisteede ja urogenitaalproovid
<b>Protokolli nimetus</b>	Complex400_V4_DSP
<b>Analüüsi kontrolli vaikekomplekt</b>	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
<b>Muudetav</b>	Eluaadi maht: 60 µl, 85 µl, 110 µl
<b>Nõutav tarkvaraversioon</b>	Versioon 4.0 või uuem

## Sahtel „Sample“ (Proov)

<b>Proovitüüp</b>	Hingamisteede proovid (BAL, kuivatatud tampoonid, transpordimeedium, aspiratsioonid, röga) ja urogenitaalproovid (uriin, transpordimeedium)
<b>Proovi maht</b>	Sõltub kasutatavast proovikatsutist; lisateavet vt <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Primaarsed proovikatsutid</b>	Lisateabeks vt veebilehte <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Sekundaarsed proovikatsutid</b>	Lisateabeks vt veebilehte <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Sisestatavad osad</b>	Sõltub kasutatavast proovikatsutist; lisateavet vt <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Muu</b>	Vajalik on kandja RNA-puhver AVE segu; sisekontrolli kasutamine on valikuline.

## Sahtel „Reagents and Consumables“ (Reaktiivid ja tarvikud)

<b>Positsioon A1 ja/või A2</b>	Reaktiivikassett (Reagent cartridge, RC)
<b>Positsioon B1</b>	Puhver ATL (ATL)
<b>Otsikute statiivi hoidik 1–17</b>	Ühekordsed filtriotsakud, 200 µl
<b>Otsikute statiivi hoidik 1–17</b>	Ühekordsed filtriotsakud, 1500 µl
<b>Üksuse karbi hoidik 1–4</b>	Üksuse karbid, mis sisaldavad proovi ettevalmistamise kassette
<b>Üksuse karbi hoidik 1–4</b>	Üksuse karbid, mis sisaldavad 8 vardaga kaasi

## Sahtel „Waste“ (Jäätmed)

<b>Üksuse karbi hoidik 1–4</b>	Tühjad üksuse karbid
<b>Jäätmekoti hoidik</b>	Jäätmekott
<b>Vedeljäätmete pudeli hoidik</b>	Vedeljäätmete pudel

## Sahtel „Eluate“ (Eluaat)

Elueerimisraam (soovitame kasutada pesa 1, jahutusasend)

Lisateabeks vt veebilehte  
[www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

## Vajalik plastvara

	Üks partii, 24 proovi*	Kaks partiid, 48 proovi*	Kolm partiid, 72 proovi*	Neli partiid, 96 proovi*
Ühekordsed filtritsakud, 200 µl†‡	34	60	86	112
Ühekordsed filtritsakud, 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 filtritsakuid. Partii kohta vähem kui 24 proovi kasutamine vähendab vajaminevate ühekordsete filterotsikute arvu töötsükli kohta.

† Filtritsakute statiivis on 32 filtritsakut.

‡ Vajalike filtritsakute arvu hulka on arvatud filtritsakud, mis on vajalikud üheks inventuurskannimiseks reaktiivi kasseti kohta.

§ Üksuse karbis on 28 proovi ettevalmistamise kassetti.

¶ Üksuse karbis on kaksteist 8 vardaga kaant.

**Märkus.** Antud filtritsakute 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 väikseim 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/dsphanbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphanbooks).

**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 soovitame 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 valemist 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 valemist 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](http://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 QIA Symphony SP puuteekraanil. 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](http://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](http://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 partiis/töökäigus.

## Proovimaterjali ettevalmistamine

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

## Uriin

Uriini saab käidelda ilma täiendava eeltöötluseta. 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](http://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 500 µl puhvriga ATL (ATL) (kat. nr 939016). Kandke

proov 2 ml Sarstedt katsutisse (katalooginr 72.694 või 72.694). Asetage proov katsutihoidikusse ja käideldge proovi, kasutades protokoll Complex400\_V4\_DSP ja nõutavat laboritarkvara FIX.

## Gram-positiivsete bakterite genoomse DNA eraldamine

Enne proovide üleviimist QIA Symphony SP-sse ja protokoll Complex400\_V4\_DSP käivitamist võib DNA-puhastamist mõne gram-positiivse bakteri puhul parandada ensümaatilise eeltötluse abil.

1. Sadestage bakterid tsentrifuugimisega 5000 x g juures 10 minutit.
2. Suspendeerige bakterisade 500 µl sobivas ensüümilahuses (20 mg/ml lüsoosüümi või 200 µg/ml lüsostafiini 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. Tsentrifuugige 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 Complex400\_V4\_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 500 µl proovi üle 2 ml Sarstedti katsutisse (kat. nr 72.693 või 72.694). Käideldge proove kasutades protokoll Complex400\_V4\_DSP.

\* Sputasool (Oksoid, kat. nr SR0233, [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com)) või ditiitreitool (DTT).

† See ei ole täielik tarnijate loend.

## Kuivatatud kehavedelike ja sekreetide tamponid

1. Kastke kuivanud tamponi ots 750 µl ATL puhvrise (katalooginr 939016) ja inkubeerige pidevalt segades 15 minutit ( $\pm$  1 minut) temperatuuril 56 °C. Kui segamine ei ole võimalik, keerutage enne ja pärast inkubeerimist vähemalt 10 sekundit.
2. Eemaldage tampon ja väänake kogu vedelik välja, surudes tamponi vastu katsuti seinu.
3. Viige vähemalt 500 µl proovi üle 2 ml Sarstedti katsutisse (kat. nr 72.693 või 72.694). Käideldge proove kasutades protokoll Complex400\_V4\_DSP.

**Märkus.** See protokoll on optimeeritud puuvill- või polüetüleen tamponidele. Muude tamponide kasutamisel võib olla vajalik ATL puhvri (ATL) mahu reguleerimine tagamaks, et proovimaterjalina oleks olemas vähemalt 500 µl.

## Transportsöötmes säilitatud hingamisteede ja urogenitaalsed tamponid

Hingamisteede ja urogenitaalsete tamponide säilitusmeediumit võib kasutada ilma eeltötluseta. Kui tampon ei ole eemaldatud, vajutage tampon vastu katsuti külge, et vedelik välja suruda. Samal ajal tuleks proovi jäänud lima koguda tamponile. Seejärel tuleb tamponist ja limast jääkvedelik välja väänata vajutades tamponi vastu katsuti külge. Lõpuks tuleb tampon 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 tamponi, tehke seda enne tamponi 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 primaarkatsutist. Ühilduvad primaar- ja sekundaarkatsutid, sealhulgas iga protokolliga jaoks nõutav minimaalne algmaht, on loetletud aadressil [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://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](http://www.qiagen.com) või tellimisel QIAGEN-i tehniliselt teenistuselt või kohalikult 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-S28-002 © 2017 QIAGEN, kõik õigused kaitstud.



---

Tellimine [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehniline tugi [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Veebisait [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)