

Gruodis 2017

„QIASymphony[®] SP“ protokolo lapas

„Complex800_V6_DSP“ protokolas

Šis dokumentas yra „Complex800_V6_DSP“ „QIASymphony SP“ protokolo lapas, R2, skirtas rinkiniui „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“, 1 versija.

Bendroji informacija

Rinkinys „QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Kit“ skirtas naudoti tik *in vitro* diagnostikai.

Rinkinys	QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Mėginio medžiaga	Kvėpavimo trakto ir urogenitaliniai mėginiai
Protokolo pavadinimas	Complex800_V6_DSP
Numatytasis tyrimo kontrolės rinkinys	ACS_Complex800_V6_DSP_default_IC
Redaguojama	Eliuato tūris: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Reikalinga programinės įrangos versija	4.0 arba naujesnė versija

„Sample“ (mėginių) stalčius

Mėginio tipas	Kvėpavimo trakto mėginiai (BAL, išdžiovinti tamponai, transportavimo terpė, aspiratai, skrepliai) ir urogenitaliniai mėginiai (šlapimas, transportavimo terpė)
Mėginio tūris	Priklauso nuo naudojamo mėginio mėgintuvėlio tipo; daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Pirminiai mėginių mėgintuvėliai	Daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Antriniai mėginių mėgintuvėliai	Daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Įdėklai	Priklauso nuo naudojamo mėginio mėgintuvėlio tipo; daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Kita	Reikalingas nešančiosios RNR, „Buffer AVE“ mišinys; vidinė kontrolinė medžiaga naudojama pasirinktinai

„Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčius

A1 ir (arba) A2 vieta	Reagentų kasetė (Reagent cartridge, RC)
B1 vieta	„Buffer ATL“ (ATL)
Antgalių stovėlio laikiklis, 1–17	Disposable filter-tips, 200 µl
Antgalių stovėlio laikiklis, 1–17	Disposable filter-tips, 1500 µl
Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Elementų dėžutės su mėginių paruošimo kasetėmis
Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Elementų dėžutės su „8-Rod Covers“

„Waste“ (atliekų) stalčius

Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Tuščios elementų dėžutės
Atliekų maišelio laikiklis	Atliekų maišelis
Skystųjų atliekų butelio laikiklis	Skystųjų atliekų butelis

„Eluate“ (eliuato) stalčius

Eliuavimo stovėlis
(rekomenduojame naudoti 1 lizdą, aušinimo padėtis)

Daugiau informacijos žr.
www.qiagen.com/goto/dsphandbooks

Reikalingos plastikinės priemonės

	Viena partija, 24 mėginiai*	Dvi partijos, 48 mėginiai*	Trys partijos, 72 mėginiai*	Ketrios partijos, 96 mėginiai*
Disposable filter-tips, 200 µl†	34	60	86	112
Disposable filter-tips , 1500 µl†	123	205	295	385
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Jei vienai partijai naudojama daugiau nei viena vidinė kontrolinė medžiaga ir atliekamas daugiau nei vienas reikmenų nuskaitymas, reikia papildomų vienkartinį filtrų antgalių. Jei partijoje naudojami mažiau nei 24 mėginiai, sumažėja tyrimui reikalingų vienkartinį filtrų antgalių skaičius.

† Antgalių stovelyje yra 32 filtrų antgaliai.

‡ Į reikalingų filtrų antgalių skaičių įskaičiuoti filtrų antgaliai, reikalingi vienai reagentų kasetei atliekant 1 reikmenų nuskaitymą.

§ Elementų dėžutėje yra 28 mėginių paruošimo kasetės.

¶ Elementų dėžutėje yra dvylika „8-Rod Covers“.

Pastaba. Pateiktas filtrų antgalių skaičius gali skirtis nuo jutikliniame ekrane rodomų skaičių; tai priklauso nuo parametrų, pavyzdžiui, partijoje naudojamų vidinių kontrolinių medžiagų.

Pasirinktas eliuavimo tūris

Pasirinktas eliuavimo tūris (µl)*	Pradinis eliuavimo tūris (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Jutikliniame ekrane pasirinktas eliuavimo tūris. Tai yra mažiausias pasiekiamas eliuato tūris paskutiniame eliuavimo mėgintuvėlyje.

† Pradinis eliuavimo tirpalo tūris yra reikalingas tam, kad faktinis eliuato tūris sutaptų su pasirinktu tūriu.

Vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) ir „Buffer AVE“ (AVE) mišinio ruošimas

Pasirinktas eliuavimo tūris (μl)	Pradinis nešančiosios RNR tūris (CARRIER) (μl)	Vidinės kontrolinės medžiagos tūris (μl)*	„Buffer AVE“ tūris (AVE) (μl)	Galutinis vieno mėginio tūris (μl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Vidinės kontrolinės medžiagos kiekio skaičiavimas pagrįstas pradiniu eliuavimo tūriu. Papildomas neveikos tūris priklauso nuo naudojamo mėginio mėgintuvėlio tūrio; daugiau informacijos žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Pastaba. Lentelėje pateiktos vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) mišinio, skirtos paskesniajam tyrimui, kuriam reikia 0,1 μl vidinės kontrolinės medžiagos/μl eliuato, paruošimo reikšmės.

Mėgintuvėliai su vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) ir „Buffer AVE“ (AVE) mišiniu dedami į mėgintuvėlių laikiklį. Mėgintuvėlių laikiklį su vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) ir „Buffer AVE“ (AVE) mišiniu (mišiniais) reikia įdėti į „Sample“ (mėginių) stalčiaus lizdą A.

Atsižvelgiant į apdorojamų mėginių skaičių, vidinei kontrolei medžiagai skiesti rekomenduojame naudoti 2 ml mėgintuvėlius („Sarstedt“, kat. nr. 72.693 arba 72.694) arba 14 ml 17 x 100 mm polistireno, apvaliadugnius mėgintuvėlius („Becton Dickinson“, kat. nr. 352051), kaip aprašyta toliau esančioje lentelėje. Tūrį galima padalyti į 2 ar daugiau mėgintuvėlių.

Vidinės kontrolinės medžiagos mišinio tūrio skaičiavimas

Mėgintuvėlio tipas	Pavadinimas „QIASymphony“ jutikliniame ekrane	Vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) ir „Buffer AVE“ (AVE) mišinio tūrio skaičiavimas vienam mėgintuvėliui
Microtube 2 ml with cap; mikromėgintuvėlis 2 ml, PP, PASTATOMAS, („Sarstedt“, kat. nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 120 μl) + 360 μl*
Microtube 2 ml with cap; mikromėgintuvėlis 2 ml, PP, NEGALINTIS STOVĖTI, („Sarstedt“, kat. nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 120 μl) + 360 μl*
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom („Becton Dickinson“, kat. nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	(n x 120 μl) + 600 μl†

* Naudokite šią lygtį, kai norite suskaičiuoti vidinės kontrolinės medžiagos mišinio reikiamą tūrį (n = mėginių skaičius; 120 μl = vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER), „Buffer AVE“ (AVE) mišinio tūris; 360 μl = reikalingas neveikos tūris viename mėgintuvėlyje). Pavyzdžiui, jei yra 12 mėginių (n = 12): (12 x 120 μl) + 360 μl = 1800 μl. Nepilkite į mėgintuvėlį daugiau nei 1,9 ml (t. y. ne daugiau nei 12 mėginių mėgintuvėlyje). Jeigu bus apdorojama daugiau nei 12 mėginių, naudokite papildomus mėgintuvėlius ir nepamirškite pridėti kiekvieno mėgintuvėlio neveikos tūrio.

† Naudokite šią lygtį, kai norite suskaičiuoti vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) ir „Buffer AVE“ (AVE) mišinio reikiamą tūrį (n = mėginių skaičius; 120 μl = vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER), „Buffer AVE“ (AVE) mišinio tūris; 600 μl = reikalingas neveikos tūris viename mėgintuvėlyje). Pavyzdžiui, jei yra 96 mėginiai (n = 96): (96 x 120 μl) + 600 μl = 12120 μl.

Informaciją apie reikiamus įdėklus žr. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

FIX laboratorinių reikmenų naudojimas

Perkeliant skystį naudojant skysčio lygio aptikimo (liquid-level detection, LLD) funkciją, galima naudoti pirminį ir antrinį mėgintuvėlius. Tačiau tokiu atveju atitinkamuose mėgintuvėliuose būna tam tikras neveikos tūris. Siekiant sumažinti neveikos tūrius, antrinius mėgintuvėlius reikia naudoti be skysčio lygio aptikimo funkcijos. Siūlomi specialūs FIX laboratoriniai reikmenys (pvz., SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), kuriuos taip pat galima pasirinkti „QIASymphony SP“ jutikliniame ekrane. Šiam mėgintuvėlio / stovelio tipui nustatyti aspiravimo apribojimai. Mėginys aspiruojamas į mėgintuvėlį iki tam tikro aukščio, kuris priklauso nuo perkeliama mėginio tūrio. Todėl svarbu įsitikinti, ar naudojamas laboratorinių reikmenų sąrašė nurodytas tūris. Laboratorinių reikmenų sąrašą galite atsisiųsti iš www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Mėginių mėgintuvėliai, kuriuos galima naudoti su skysčio lygio aptikimo funkcija arba be jos, ir reikalingi mėginio tūriai pateikti www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Nenaudokite didesnių ar mažesnių tūrių, nei reikalingas tūris, nes ruošiant mėginį galimos klaidos.

Skysčio lygiui aptikti skirtus mėgintuvėlius ir šiam tikslui neskirtus mėgintuvėlius galima apdoroti vienoje partijoje / procedūroje.

Mėginio medžiagos paruošimas

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis būtinai dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinės pirštines ir užsidėkite apsauginius akinius. Daugiau informacijos yra atitinkamuose medžiagos saugos duomenų lapuose (material safety data sheets, MSDS), kuriuos gali pateikti produkto tiekėjas.

Šlapimas

Šlapimą galima apdoroti be papildomo pirminio apdorojimo. Perkelkite mėginį į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį (kat. nr. 72.693 arba 72.694) ir įdėkite mėginį į mėgintuvėlių laikiklį. Arba galima naudoti pirminius mėgintuvėlius. Reikalingas minimalus pradinis tūris gali skirtis, atsižvelgiant į naudojamą pirminį mėgintuvėlį. Suderinami pirminio ir antrinio mėgintuvėlių formatai, įskaitant kiekvienam protokolui reikalingą minimalų pradinį tūrį, išvardyti www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Sistema yra optimizuota gryniems šlapimo mėginiams, kuriuose nėra konservantų. Norint padidinti jautrumą bakteriniams patogenams, mėginius galima centrifuguoti. Pašalinus supernatantą, granulę galima resuspenduoti mažiausiai 800 µl „Buffer ATL“ (ATL) (kat. nr. 939016). Perkelkite mėginį į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį (kat. nr. 72.693 arba 72.694). Įdėkite mėginį į mėgintuvėlių laikiklį ir apdorokite naudodami „Complex800_V6_DSP“ protokolą bei reikiamus FIX laboratorinius reikmenis.

Genominės DNR išskyrimas iš gramteigiamų bakterijų

Kai kurių gramteigiamų bakterijų DNR išgryninimą galima pagerinti atlikus pirminį fermentinį apdorojimą prieš perkeliant mėginį į „QIASymphony SP“ ir pradedant „Complex800_V6_DSP“ protokolą.

1. Granuliuokite bakterijas centrifuguodami 5000 x g 10 minučių.
2. Suspenduokite bakterijų granulę 900 µl atitinkamo fermento tirpalo (20 mg/ml lizocimo arba 200 µg/ml lizostafino; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % „Triton X-100“).
3. Inkubuokite 37 °C temperatūroje bent 30 minučių (± 2 min.).
4. Trumpai centrifuguokite mėgintuvėlį, kad pašalintumėte lašelius nuo dangtelio vidinės pusės.
5. Perkelkite mėginį į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį (kat. nr. 72.693 arba 72.694), įdėkite mėginį į mėgintuvėlių laikiklį ir vykdykite „Complex800_V6_DSP“ protokolą, naudodami reikiamus FIX laboratorinius reikmenis.

Klampūs arba gleivėti mėginiai

Kai kurie mėginiai (pvz., skrepliai, kvėpavimo trakto aspiratai) gali būti klampūs ir, norint pipetuoti, juos reikia suskystinti. Mažo klampumo mėginių papildomai paruošti nereikia. Vidutinio ir didelio klampumo mėginius reikia paruošti taip:

1. praskieskite mėginį santykiu 1:1 „Sputasol“^{**†} („Oxoid“, kat. nr. SR0233) arba 0,3 % (w/v) DTT.

Pastaba. 0,3 % (w/v) DTT tirpalą galima pasigaminti iš anksto ir laikyti alikvotinėmis dalimis –20 °C temperatūroje. Panaudoję atitirpintas alikvotines dalis išmeskite.

2. Inkubuokite 37 °C temperatūroje, kol mėginio klampumas bus tinkamas pipetuoti.
3. Perkelkite mažiausiai 900 µl mėginio į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį (kat. nr. 72.693 arba 72.694). Apdorokite mėginį naudodami „Complex800_V6_DSP“ protokolą.

* „Sputasol“ („Oxoid“, kat. nr. SR0233, www.oxoid.com) arba ditiotreitolis (DTT).

† Sąraše nurodyti ne visi tiekėjai.

Išdžiovintų kūno skysčių ir sekreto tamponai

1. Pamerkite išdžiovinto tampono galą į 1150 µl „Buffer ATL“ (ATL) (kat. nr. 939016) ir inkubuokite 56 °C temperatūroje 15 minučių (± 1 min.) nuolat maišydami. Jei maišyti neįmanoma, prieš inkubavimą ir po inkubavimo purtykite bent 10 sekundžių.
2. Ištraukite tamponą ir, prispausdami prie vidinės mėgintuvėlio sienelės pusės, išspauskite iš jo visą skystį.
3. Perkelkite mažiausiai 900 µl mėginio į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį (kat. nr. 72.693 arba 72.694). Apdorokite mėginį naudodami „Complex800_V6_DSP“ protokolą.

Pastaba. Šis protokolas optimizuotas medvilniniams arba polietileningiems tamponams. Naudojant kitokius tamponus, norint gauti bent 900 µl mėginio medžiagos, gali tekti koreguoti „Buffer ATL“ (ATL) tūrį.

Transportavimo terpėje laikomi kvėpavimo trakto arba urogenitaliniai tamponai

Kvėpavimo trakto arba urogenitalinių tamponų laikymo terpę galima naudoti be pirminio apdoravimo. Jeigu tamponai nebuvo išimti, prispauskite tamponą prie mėgintuvėlio sienelės, kad išspaustumėte skystį. Dabar, surenkant ant tampono, iš mėginio reikia pašalinti perteklines gleives. Tuomet, prispaudžiant tamponą prie mėgintuvėlio sienelės, iš gleivių ir tampono reikia išspausti likusį skystį. Galiausiai, tamponą ir gleives reikia išimti ir išmesti. Jeigu mėginiai yra klampūs, prieš perkeldami mėginį į „QIASymphony SP“, suskystinkite juos (žr. anksčiau „Klampūs arba gleivėti mėginiai“). Jeigu nepakanka pradinės medžiagos, pipete perkelkite „Buffer ATL“ (ATL) į transportavimo terpę, kad gautumėte minimalų reikalingą pradinį tūrį, ir purtykite mėginį mėgintuvėlyje 15–30 sekundžių (jeigu transportavimo terpėje yra tamponas, šį veiksma atlikite prieš išimdami tamponą). Perkelkite mėginį į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį (kat. nr. 72.693 arba 72.694) ir įdėkite mėginį į mėgintuvėlių laikiklį. Arba galima naudoti pirminius mėgintuvėlius. Reikalingas minimalus pradinis tūris gali skirtis, atsižvelgiant į naudojamą pirminį mėgintuvėlį. Suderinami pirminiai ir antriniai mėgintuvėliai, įskaitant kiekvienam protokolui reikalingą minimalų pradinį tūrį, išvardyti www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Peržiūros istorija

Dokumento peržiūros istorija	
R2 12/2017	„QIAsymphony“ programinės įrangos 5.0 versijos naujinimas

Norėdami gauti naujausios informacijos apie licencijavimą ir atsakomybės už produktus apribojimus, žr. atitinkamą QIAGEN® rinkinio vadovą arba naudotojo vadovą. QIAGEN rinkinių vadovai arba naudotojo vadovai pateikti svetainėje www.qiagen.com arba galite jų paprašyti QIAGEN techninių tarnybų ar vietinio platintojo.

Prekių ženklai: QIAGEN®, „Sample to Insight“®, „QIAsymphony“™ (QIAGEN grupė). Šiame dokumente vartojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jei jie specialiai nepažymėti, vis tiek yra saugomi įstatymų. 12/2017 HB-0301-S30-002_LT © QIAGEN, 2017. Visos teisės saugomos.

Užsakymas www.qiagen.com/shop | Techninė pagalba support.qiagen.com | Svetainė www.qiagen.com