

2017. gada decembris

# QIAsymphony<sup>®</sup> SP protokola lapa

## Complex800\_V6\_DSP protokols

Šis dokuments ir Complex800\_V6\_DSP QIAsymphony SP protokola lapa, R2, paredzēts QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, 1. versija.

## Vispārīga informācija

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

|  |  |
|--|--|
| <b>Komplekts</b>                             | QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit    |
| <b>Parauga materiāls</b>                     | Elpeļu un uroģenitālie paraugi             |
| <b>Protokola nosaukums</b>                   | Complex800_V6_DSP                          |
| <b>Noklusējuma testa kontroles komplekts</b> | ACS_Complex800_V6_DSP_default_IC           |
| <b>Rediģējams</b>                            | Izvērtēšanas tilpums: 60 µl, 85 µl, 110 µl |
| <b>Nepieciešamā programmatūras versija</b>   | Versija 4.0 vai jaunāka                    |

## “Sample” (Paraugu) atvilktnē

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| <b>Parauga tips</b>               | Elpeļu paraugi (BAL, sausi uztriepu kocini, transportviela, elpeļu izdalījumi, krēpas) un uroģenitālie paraugi (urīns, transportviela)                               |
| <b>Parauga tilpums</b>            | Atkarībā no izmantotā parauga stobriņa tipa; papildinformāciju skatiet vietnē <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> |
| <b>Primāro paraugu stobriņi</b>   | Papildinformācija vietnē <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>  |
| <b>Sekundāro paraugu stobriņi</b> | Papildinformācija vietnē <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>  |
| <b>Ieliktni</b>                   | Atkarībā no izmantotā parauga stobriņa tipa; papildinformāciju skatiet vietnē <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> |
| <b>Citi</b>                       | Nepieciešams nēsātāja RNS–buferšķīduma AVE maisijums; iekšējās kontroles izmantošana ir neobligāta   |

## “Reagents and Consumables” (Reaģentu un izlietojamo materiālu) atvilktnē

|                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| <b>Pozīcija A1 un/vai A2</b>         | Reaģenta kasetne (Reagent cartridge, RC)              |
| <b>Pozīcija B1</b>                   | Buferšķīduma ATL (ATL)                                |
| <b>Uzgaļu paplātes turētājs 1–17</b> | Vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi, 200 µl         |
| <b>Uzgaļu paplātes turētājs 1–17</b> | Vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi, 1500 µl        |
| <b>Komplekta kārbas turētājs 1–4</b> | Komplekta kārbas satur paraugu sagatavošanas kasetnes |
| <b>Komplekta kārbas turētājs 1–4</b> | Komplekta kārbas satur 8 stobriņu pārsegus            |

## “Waste” (Izlietotā materiāla) atvilktnē

|                                   |                         |
|-----------------------------------|-------------------------|
| Komplekta kārbas turētājs 1-4     | Tukšas komplekta kārbas |
| Atkritumu maisa turētājs          | Atkritumu maiiss        |
| Šķidro atkritumu pudeles turētājs | Šķidro atkritumu pudele |

## “Eluate” (Eluāta) atvilktnē

|   |   |
|---|---|
| Elūcijas plaukts (iesakām izmantot 1. slotu, dzesēšanas pozīcija) | Papildinformācija vietnē <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> |
|---|---|

## Nepieciešamie plastmasas piederumi

|  | Viena partija,<br>24 paraugi* | Divas partijas,<br>48 paraugi* | Trīs partijas,<br>72 paraugi* | Četras partijas,<br>96 paraugi* |
|--|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| Vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi, 200 µl†‡  | 34                            | 60                             | 86                            | 112                             |
| Vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi, 1500 µl†‡ | 123                           | 205                            | 295                           | 385                             |
| Paraugu sagatavošanas kasetnes§                  | 18                            | 36                             | 54                            | 72                              |
| 8 stobriņu pārsegī¶                              | 3                             | 6                              | 9                             | 12                              |

\* Ja uz vienu partiju tiek izmantota vairāk kā viena iekšējā kontrole un veikta vairāk kā viena inventāra skenēšana, nepieciešami papildu vienreizējās lietošanas filtru uzgaļi. Ja uz partiju tiek izmantoti mazāk par 24 paraugiem, samazinās arī katrā piegājēnā nepieciešamo vienreizējās lietošanas filtru 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 divpadsmīt 8 stobriņu pārsegī komplekta kārbā.

**Piezīme.** Norādītais filtru uzgaļu skaits var atšķirties no skārienekrānā parādītā skaita atkarībā no iestatījumiem, piemēram, uz katru partiju izmantoto iekšējo kontroļu skaita.

## Izvēlētais elūcijas tilpums

| Izvēlētais elūcijas tilpums<br>(µl)* | Sākotnējais elūcijas tilpums (µl)† |
|--------------------------------------|------------------------------------|
| 60                                   | 90                                 |
| 85                                   | 115                                |
| 110                                  | 140                                |

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

† Sākotnējais elūcijas šķidruma tilpums, kas nepieciešams, lai nodrošinātu, ka eluāta faktiskais tilpums ir identisks izvēlētajam tilpumam.

## Iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķiduma AVE (AVE) maisījuma sagatavošana

| Izvēlētais elūcijas tilpums (µl) | Nēsātāja RNS (CARRIER) tilpums (µl) | Iekšējās kontroles tilpums (µl)* | Buferšķiduma 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](http://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.

Stobriņi, kas satur iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķiduma AVE (AVE) maisījumu, ir ievietoti stobriņu pārnēsātājā. Stobriņu pārnēsātājs, kas satur iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķiduma AVE (AVE) maisījumu(s), ir jāievieto paraugu atvilktnes A slotā.

Atkarībā no apstrādājamo paraugu skaita mēs iesakām izmantot 2 ml stobriņus (Sarstedt, kat. Nr. 72.693 vai 72.694) vai 14 ml 17 x 100 mm polistirola apaļgala stobriņus (Becton Dickinson, kat. Nr. 352051), lai atšķaidītu iekšējo kontroli, kā aprakstīts tālāk esošajā tabulā. Tilpumu iespējams sadalīt 2 vai vairāk stobriņos.

## Iekšējās kontroles maisījuma tilpuma aprēķināšana

| Stobriņa tips   | Nosaukums QIAxSymphony skārienekrānā | Iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķiduma AVE (AVE) maisījuma tilpuma aprēķināšana uz stobriņu |
|---|--------------------------------------|---|
| Mikro stobriņš 2 ml ar aizbāzni; mikro stobriņš 2 ml, PP, PILNMALU, (Sarstedt, kat. Nr. 72.694)     | SAR#72.694<br>T2.0 ScrewSkirt        | (n x 120 µl) + 360 µl*  |
| Mikro stobriņš 2 ml ar aizbāzni; mikro stobriņš 2 ml, PP, NAV PILNMALU, (Sarstedt, kat. Nr. 72.693) | SAR#72.693<br>T2.0 Screw             | (n x 120 µl) + 360 µl*  |
| Stobriņš 14 ml, 17 x 100 mm polistirola apaļgala (Becton Dickinson, kat. Nr. 352051)                | BD#352051<br>FalconPP 17x100         | (n x 120 µl) + 600 µl†  |

\* Izmantojet šo vienādojumu, lai aprēkinātu nepieciešamo iekšējās kontroles maisījuma tilpumu (n = paraugu skaits; 120 µl = iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķiduma AVE (AVE) maisījuma tilpums; 360 µl = uz stobriņu nepieciešamais neizmantojamais tilpums). Piemēram, 12 paraugiem (n = 12): (12 x 120 µl) + 360 µl = 1800 µl.

Neuzpildet stobriņu vairāk par 1,9 ml (t.i., maksimāli 12 paraugi stobriņā). Ja tiks apstrādāti vairāk nekā 12 paraugi, izmantojet papildu stobriņus, nodrošinot neizmantojamā tilpuma pievienošanu uz katru stobriņu.

† Izmantojet šo vienādojumu, lai aprēkinātu nepieciešamo iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķiduma AVE (AVE) maisījuma tilpumu (n = paraugu skaits; 120 µl = iekšējās kontroles–nēsātāja RNS (CARRIER)–buferšķiduma AVE (AVE) maisījuma tilpums; 600 µl = uz stobriņu nepieciešamais neizmantojamais tilpums). Piemēram, 96 paraugiem (n = 96): (96 x 120 µl) + 600 µl = 12120 µl.

Informāciju par nepieciešamajiem ieliktniem skatiet vietnē [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

## FIX laboratorijas aprīkojuma izmantošana

Šķidruma līmeņa noteikšanas (liquid-level detection, LLD) izmantošana paraugu pārvietošanā ļauj izmantot primāros un sekundāros stobriņus. Taču tam nepieciešams konkrēts neizmantojamais tilpums attiecīgajos stobriņos. Lai samazinātu neizmantojamos tilpumus, sekundārie stobriņi ir jāizmanto bez šķidruma līmeņa noteikšanas. Pieejams specifisks FIX laboratorijas aprīkojums (piemēram, SAR\_FIX\_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), ko arī iespējams izvēlēties QIAasympathy SP skārienekrānā. Šim stobriņa/paplātes tipam ir ierobežojumi attiecībā uz elpošanu. Paraugs tiek izelpots stobriņā noteiktā augstumā, un to nosaka pārvietojamā parauga tilpums. Tāpēc ir ļoti svarīgi pārliecināties, ka tiek izmantots laboratorijas aprīkojuma sarakstā norādītais tilpums. Laboratorijas aprīkojuma saraksti ir pieejami lejupielādei no vietnes [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

Paraugu stobriņi, ko iespējams izmantot ar vai bez šķidruma līmeņa noteikšanas, un nepieciešamie paraugu tilpumi ir norādīti vietnē [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks). Neizmantojiet tilpumus, kas lielāki vai mazāki par nepieciešamo tilpumu, jo tas var izraisīt klūdas paraugu sagatavošanas laikā.

Stobriņus šķidruma līmeņa noteikšanai un stobriņus, kas nav paredzēti šķidruma līmeņa noteikšanai, iespējams apstrādāt vienā partijā/laidienā.

## Parauga materiāla sagatavošana

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājet 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.

## Urīns

Urīnu iespējams apstrādāt bez iepriekšējas apstrādes. Pārvietojiet paraugu 2 ml Sarstedt stobriņā (kat. Nr. 72.693 vai 72.694) un ievietojiet paraugu stobriņu glabātājā. Alternatīvi iespējams izmantot primāros stobriņus. Nepieciešamais minimālais sākuma tilpums var atšķirties atkarībā no izmantotā primārā stobriņa. Saderīgie primāro un sekundāro stobriņu formāti, tostarp minimālais katram protokolam nepieciešamais sākuma tilpums, ir norādīti vietnē [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks). Sistēma ir optimizēta tīra urīna paraugiem, kas nesatur konservantus. Lai palielinātu bakteriālo patogēnu jutīgumu, paraugu iespējams centrifugēt. Pēc

supernatanta izmešanas granulu iespējams resuspendēt vismaz 800 µl buferšķīduma ATL (ATL) (kat. Nr. 939016). Pārvietojiet paraugu uz 2 ml Sarstedt stobriņu (kat. Nr. 72.693 vai 72.694). Ievietojiet paraugu stobriņu glabātājā un apstrādājiet paraugu, izmantojot Complex800\_V6\_DSP protokolu un nepieciešamo FIX laboratorijas aprīkojumu.

#### Genoma DNS izolēšana no grampozitīvās baktērijas

DNS attīrišanu iespējams uzlabot atsevišķām grampozitīvām baktērijām, izmantojot fermentatīvu iepriekšējo apstrādi pirms parauga pārvietošanas uz QIAasympathy SP un Complex800\_V6\_DSP protokola uzsākšanas.

1. Granulējiet baktēriju, veicot centrifugēšanu ar ātrumu 5000 x g 10 minūtes.
2. Suspendējiet bakteriālo granulu 900 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. Šlaicīgi centrifugējiet, lai likvidētu pilienus vāka iekšpusē.
5. Pārvietojiet paraugu uz 2 ml Sarstedt stobriņu (kat. Nr. 72.693 vai 72.694), ievietojiet paraugu stobriņu glabātājā un turpiniet ar Complex800\_V6\_DSP protokolu un nepieciešamo FIX laboratorijas aprīkojumu.

#### Viskozi vai glotaini 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 jāsagatavo šādi:

1. Izšķīdinet paraugu 1:1 ar Sputasol\*† (Oxoid, kat. Nr. SR0233) vai 0,3% (w/v) DTT.  
**Piezīme.** 0,3% (w/v) DTT šķīdumu iespējams pagatavot iepriekš un uzglabāt alikvotās – 20°C temperatūrā. Pēc lietošanas izmetiet izkusušās alikvotas.
2. Inkubējiet 37°C temperatūrā, līdz parauga viskozitāte ir piemērota pipetēšanai.
3. Pārvietojiet vismaz 900 µl parauga uz 2 ml Sarstedt stobriņu (kat. Nr. 72.693 vai 72.694). Apstrādājiet paraugu, izmantojot Complex800\_V6\_DSP protokolu.

\* Sputasol (Oxoid, kat. Nr. SR0233, [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com)) vai ditiotreitols (DTT).

† Šis nav pilnīgs piegādātāju saraksts.

## Sausi ķermeņa šķidrumu un sekrētu uztriepju kociņi

1. Iegremdējiet sausā uztriepes kociņa galu 1150 µl buferšķīduma ATL (ATL) (kat. Nr. 939016) un inkubējiet 56°C temperatūrā 15 minūtes ( $\pm$  1 minūte), nepārtraukti jaucot. Ja sajaukšana nav iespējama, skaliniet pirms un pēc inkubācijas vismaz 10 sekundes.
2. Izņemiet kociņu un izspiediet ārā visu šķidrumu, spiežot kociņu pret stobriņa iekšpusi.
3. Pārvietojiet vismaz 900 µl parauga uz 2 ml Sarstedt stobriņu (kat. Nr. 72.693 vai 72.694). Apstrādājiet paraugu, izmantojot Complex800\_V6\_DSP protokolu.

**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 900 µl parauga materiāla.

## Elpcelū vai uroģenitālie uztriepes kociņi, kas tiek uzglabāti transportvielā

Uzglabāšanas līdzekli elpcelū vai uroģenitālajiem uztriepes kociņiem iespējams izmantot bez iepriekšējas apstrādes. Ja uztriepes kociņš nav izņemts, piespiediet kociņu pret stobriņa malu, lai izspiestu šķidrumu. Šajā brīdī jāizspiež visas liekās glotas no parauga, savācot tās ar kociņu. Viss liekais šķidrums no glotām un uztriepes kociņa ir jāizspiež laukā, spiežot kociņu pret stobriņa malu. Visbeidzot, uztriepes kociņš un glotas ir jāizņem un jāizmet. Ja paraugi ir viskozi, izpildiet sašķidrināšanas darbību (skatiet sadaļu "Viskozi vai glotaini paraugi" iepriekš), pirms pārvietot paraugu uz QIAAsymphony SP. Ja nav pietiekama sākuma materiāla, pipetējiet buferšķīduma ATL (ATL) transportvielā, lai pielāgotu nepieciešamo minimālo sākuma tilpumu, un saskaliniet paraugu 15-30 sekundes stobriņā (ja transportviela satur uztriepes kociņu, veiciet šo darbību pirms uztriepes kociņa izņemšanas). Pārvietojiet paraugu 2 ml Sarstedt stobriņā (kat. Nr. 72.693 vai 72.694) un ievietojiet paraugu stobriņu glabātājā. Alternatīvi iespējams izmantot primāros stobriņus. Nepieciešamais minimālais sākuma tilpums var atšķirties atkarībā no izmantotā primārā stobriņa. Saderīgie primārie un sekundārie stobriņi, tostarp minimālais katram protokolam nepieciešamais sākuma tilpums, ir norādīti vietnē [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

## 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](http://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 iipaši norādīts.  
12/2017 HB-0301-S30-002 © 2017 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

---

Pasūtīšana [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehniskais atbalsts [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Tīmekļa vietne [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)