

December 2017

Protokolový list QIAasymphony[®] SP

Protokol Complex400_V4_DSP

Tento dokument je protokolovým listom Complex400_V4_DSP QIAasymphony SP, R2, pre súpravu QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, verzia 1.

Všeobecné informácie

Súprava QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit je určená na diagnostické použitie in vitro.

Súprava	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Materiál vzorky	Respiračné a urogenitálne vzorky
Názov protokolu	Complex400_V4_DSP
Východisková kontrolná súprava analýzy	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Upraviteľné	Objem eluátu: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Potrebná softvérová verzia	Verzia 4.0 alebo vyššia

Zásuvka „Sample“ (Vzorka)

Typ vzorky	Respiračné vzorky (BAL, vysušené tampóny s výtermi, prepravné médiá, aspiráty, spútum) a urogenitálne vzorky (moč, prepravné médiá)
Objem vzorky	V závislosti od typu použitej skúmavky na vzorky; viac informácií nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Primárne skúmavky na vzorky	Viac informácií nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Sekundárne skúmavky na vzorky	Viac informácií nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Vložky	V závislosti od typu použitej skúmavky na vzorky; viac informácií nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Iné	Potrebná je zmes nosič RNA-pufer AVE; použitie interného kontrolného roztoku je voliteľné

Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál)

Umiestnenie A1 a/alebo A2	Reagenčná kazeta (Reagent cartridge, RC)
Umiestnenie B1	Pufer ATL (ATL)
Držiak stojanu hrotov 1 – 17	Jednorazové filtračné hroty, 200 µl
Držiak stojanu hrotov 1 – 17	Jednorazové filtračné hroty, 1500 µl
Držiak škatuliek jednotky 1 – 4	Škatulky jednotky obsahujúce kazety na prípravu vzoriek
Držiak škatuliek jednotky 1 – 4	Škatulky jednotky obsahujúce 8-tyčkové kryty

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držiak škatuliek jednotky 1 – 4	Prázdne škatulky jednotky
Držiak odpadového vrečka	Odpadové vrečko
Držiak nádoby na tekutý odpad	Nádoba na tekutý odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Stojan pre elúciu (odporúčame použitie slotu 1, chladené umiestnenie)

Viac informácií nájdete na stránke
www.qiagen.com/goto/dsphandbooks

Požadované plastové pomôcky

	Jedna dávka, 24 vzoriek*	Dve dávky, 48 vzoriek*	Tri dávky, 72 vzoriek*	Štyri dávky, 96 vzoriek*
Jednorazové filtračné hroty, 200 µl†‡	34	60	86	112
Jednorazové filtračné hroty, 1500 µl†‡	123	205	295	385
Kazety na prípravu vzoriek§	18	36	54	72
8-tyčkový kryt¶	3	6	9	12

* Použitie viac než jedného interného kontrolného roztoku na dávku a vykonanie viac než jedného snímania zásob si vyžaduje doplnkové jednorazové filtračné hroty. Použitie menej než 24 vzoriek na dávku znižuje počet jednorazových filtračných hrotov potrebných na sériu analýz.

† V stojane na hroty je 32 filtračných hrotov.

‡ Počet potrebných filtračných hrotov zahŕňa filtračné hroty pre 1 snímanie zásob na reagenčnú kazetu.

§ V škatuľke jednotky je 28 kaziet na prípravu vzoriek.

¶ V škatuľke jednotky je dvanásť 8-tyčkových krytov.

Poznámka: Počet daných filtračných hrotov sa môže líšiť od počtov zobrazených na dotykovej obrazovke v závislosti od nastavení, napríklad od počtu interných kontrolných roztokov použitých v rámci dávky.

Zvolený elučný objem

Zvolený elučný objem (µl)*	Počiatočný elučný objem (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Elučný objem zvolený na dotykovej obrazovke. Ide o minimálny dostupný objem eluátu v poslednej elučnej skúmavke.

† Počiatočný objem elučného roztoku potrebný na zabezpečenie, aby bol skutočný objem eluátu rovnaký ako zvolený objem.

Príprava zmesi interný kontrolný roztok–nosič RNA (CARRIER)–pufer AVE (AVE)

Zvolený elučný objem (µl)	Objem nosiča RNA (CARRIER) (µl)	Objem interného kontrolného roztoku (µl)*	Objem pufru AVE (AVE) (µl)	Konečný objem na vzorku (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Výpočet množstva interného kontrolného roztoku vychádza z počiatočných elučných objemov. Doplnkový prázdny objem závisí od typu použitej skúmavky na vzorky; viac informácií nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Poznámka: Hodnoty zobrazené v tabuľke sa vzťahujú k príprave zmesi interný kontrolný roztok–nosič RNA (CARRIER) pre analýzu proti smeru reťazca, ktorá si vyžaduje 0,1 µl interného kontrolného roztoku/µl eluátu.

Skúmavky obsahujúce zmes interný kontrolný roztok–nosič RNA (CARRIER)–pufer AVE (AVE) sa vkladajú do nosiča skúmaviek. Nosič skúmaviek obsahujúci zmes (zmesi) interný kontrolný roztok–nosič RNA (CARRIER)–pufer AVE (AVE) musí byť umiestnený do slotu A zásuvky na vzorky.

V závislosti od počtu vzoriek, ktoré je potrebné spracovať, na riedenie interného kontrolného roztoku podľa popisu v tabuľke nižšie odporúčame použiť 2 ml skúmavky (Sarstedt, kat. č. 72.693 alebo 72.694) alebo 14 ml 17 x 100 mm polystyrénové skúmavky so zaobleným dnom (Becton Dickinson, kat. č. 352051). Objem môže byť rozdelený do 2 alebo viacerých skúmaviek.

Výpočet objemu zmesi interného kontrolného roztoku

Typ skúmavky	Názov na dotykovej obrazovke QIASymphony	Výpočet objemu zmesi interný kontrolný roztok–nosič RNA (CARRIER)–pufer AVE (AVE) na skúmavku
Mikroskúmavka 2 ml s uzáverom; mikroskúmavka 2 ml, PP, S OBRUBOU, (Sarstedt, kat. č. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikroskúmavka 2 ml s uzáverom; mikroskúmavka 2 ml, PP, BEZ OBRUBY, (Sarstedt, kat. č. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Skúmavka 14 ml, 17 x 100 mm, polystyrén, so zaobleným dnom (Becton Dickinson, kat. č. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Túto rovnicu použite na výpočet potrebného objemu zmesi interného kontrolného roztoku (n = počet vzoriek; $120 \mu\text{l}$ = objem zmesi interný kontrolný roztok–nosič RNA (CARRIER)–pufer AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = prázdny objem potrebný na skúmavku). Napríklad pre 12 skúmaviek ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1\,800 \mu\text{l}$. Neplňte skúmavku na viac než 1,9 ml (t. j. maximum 12 vzoriek na skúmavku). Ak sa bude spracovávať viac než 12 vzoriek, použite dodatočné skúmavky a zabezpečte, aby bol pre každú skúmavku pridaný prázdny objem.

† Túto rovnicu použite na výpočet potrebného objemu zmesi interný kontrolný roztok–nosič RNA (CARRIER)–pufer AVE (AVE) (n = počet vzoriek; $120 \mu\text{l}$ = objem zmesi interný kontrolný roztok–nosič RNA (CARRIER)–pufer AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = prázdny objem potrebný na skúmavku). Napríklad pre 96 skúmaviek ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12\,120 \mu\text{l}$.

Potrebné vložky nájdete na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Použitie laboratórnych pomôcok FIX

Použitie detekcie úrovne kvapaliny (liquid-level detection, LLD) na prenos vzoriek umožňuje použitie primárnych a sekundárnych skúmaviek. To si však vyžaduje isté mŕtve objemy v príslušných skúmavkách. V záujme minimalizácie mŕtvych objemov treba sekundárne skúmavky používať bez detekcie úrovne kvapaliny. K dispozícii sú špecifické laboratórne pomôcky FIX (napr. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), ktoré sa tiež dajú zvoliť na dotykovej obrazovke QIASymphony SP. Tento typ skúmavky/stojana si vyžaduje obmedzenia aspirácie. Vzorka sa aspiruje do určitej výšky v skúmavke definovanej objemom vzorky, ktorý je potrebný preniesť. Preto je veľmi dôležité zabezpečiť, aby sa použil objem zaznamenaný do zoznamu laboratórnych pomôcok. Zoznam laboratórnych pomôcok je k dispozícii na stiahnutie zo stránky www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Skúmavky na vzorky, ktoré sa dajú použiť s detekciou úrovne kvapaliny alebo bez nej, a požadované objemy vzoriek sú uvedené aj na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Nepoužívajte objemy väčšie alebo menšie než požadovaný objem, pretože by to mohlo viesť k chybám počas prípravy vzoriek.

Skúmavky pre detekciu úrovne kvapaliny a skúmavky, ktoré nie sú určené na detekciu úrovne kvapaliny, sa dajú spracovávať v jednej dávke/sérii analýz.

Príprava materiálu na vzorky

Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Viac informácií nájdete na príslušných kartách bezpečnostných údajov materiálu (material safety data sheets, MSDS), ktoré sú k dispozícii u dodávateľa produktov.

Moč

Moč sa môže spracovávať bez predbežnej úpravy. Preneste vzorku do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694) a vložte do nosiča skúmaviek. Prípadne sa môžu použiť primárne skúmavky. Požadovaný minimálny počiatočný objem sa môže meniť v závislosti od použitej primárnej skúmavky. Kompatibilné formáty primárnych a sekundárnych skúmaviek vrátane minimálneho počiatočného objemu potrebného pre každý protokol sú uvedené na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Systém je optimalizovaný pre čisté vzorky moču, ktoré neobsahujú konzervačné látky. Na zvýšenie citlivosti na patogénne baktérie možno vzorky odstrediť. Po likvidácii supernatantu sa dá granula opäť suspendovať v min. 500 µl pufru ATL

(ATL) (kat. č. 939016). Presuňte vzorku do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694). Vložte vzorku do nosiča skúmaviek a spracujte ju použitím protokolu Complex400_V4_DSP a požadovaných laboratórných pomôcok FIX.

Izolácia genomickej DNA z gram-pozitívnej baktérie

Purifikácia DNA sa dá pre niektoré gram-pozitívne baktérie zlepšiť enzymatickou predbežnou úpravou pred prenosom vzorky do QIASymphony SP a spustením protokolu Complex400_V4_DSP.

1. Odstreďujte baktériu pri 5 000 x g po dobu 10 minút.
2. Bakteriálnu granulu suspendujte v 500 µl vhodného enzymatického roztoku (lyzozým 20 mg/ml alebo lyzostafín 200 µg/ml; 20 mM Tris·HCl, pH 8.0; 2 mM EDTA; 1,2 % Triton X-100).
3. Inkubujte pri teplote 37 °C po dobu aspoň 30 minút (± 2 minúty).
4. Krátko skúmavku odstredte, aby sa odstránili kvapky zvnútra viečka.
5. Preneste vzorku do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694), vložte ju do nosiča skúmaviek a pokračujte v protokole Complex400_V4_DSP použitím požadovaných laboratórných pomôcok FIX.

Viskózne alebo mukózne vzorky

Niektoré vzorky (napr. spútum, respiračné aspiráty) môžu byť viskózne a za účelom možnosti pipetovania si vyžadujú skvapalnenie. Vzorky s nízkou viskozitou si nevyžadujú ďalšiu prípravu. Vzorky so strednou až vysokou viskozitou sa majú pripravovať nasledovne:

1. Vzorku zriedte v pomere 1 : 1 s látkou Sputasol*† (Oxoid, kat. č. SR0233) alebo 0,3 % (obj. hm.) DTT.
Poznámka: Roztok 0,3 % (obj. hm.) DTT sa dá vytvoriť vopred a uskladniť v alikvótach pri teplote -20 °C. Po použití rozmrazené alikvóty zlikvidujte.
2. Inkubujte pri teplote 37 °C, kým nie je viskozita vzorky vhodná na pipetovanie.
3. Preneste aspoň 500 µl vzorky do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694). Spracujte vzorku použitím protokolu Complex400_V4_DSP.

* Sputasol (Oxoid, kat. č. SR0233, www.oxoid.com) alebo ditiotreitol (DTT).

† Nejde o úplný zoznam dodávateľov.

Vysušené tampóny s telesnou tekutinou a sekrétom

1. Ponorte konček vysušeného tampónu do 750 µl pufru ATL (ATL) (kat. č. 939016) a inkubujte za stálego miešania pri teplote 56 °C po dobu 15 minút (± 1 minúta). Ak miešanie nie je možné, pred a po inkubácii vírivo premiešavajte podobu aspoň 10 sekúnd.
2. Tampón vyberte a odstráňte všetku kvapalinu pritlačením tampónu o vnútornú stenu skúmavky.
3. Preneste aspoň 500 µl vzorky do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694). Vzorku spracujte pomocou protokolu Complex400_V4_DSP.

Poznámka: Tento protokol je optimalizovaný pre bavlnené a polyetylénové tampóny. Pri použití iných tampónov môže byť potrebné upraviť objem pufru ATL (ATL), aby bol zabezpečený objem materiálu na vzorky aspoň 500 µl.

Respiračné alebo urogenitálne tampóny uskladnené v prepravnom médiu

Skladovacie médiá pre respiračné alebo urogenitálne tampóny sa dajú použiť bez predbežnej úpravy. Ak ste tampón nevybrali, odstráňte kvapalinu pritlačením tampónu o stenu skúmavky. Teraz by sa mal odstrániť všetok nadbytočný hlien vo vzorke jeho zachytením na tampón. Všetku zvyškovú kvapalinu z hlienu a tampónu treba následne odstrániť pritlačením tampónu o stenu skúmavky. Nakoniec treba tampón s hlienom odstrániť a zlikvidovať. Ak sú vzorky viskózne, vykonajte krok skvapalnenia (pozri časť „Viskózne alebo mukózne vzorky“ vyššie) pred prenosom vzorky do QIASymphony SP. Ak k dispozícii nie je dostatok počiatočného materiálu, napipetujte pufer ATL (ATL) do prepravného média, aby ste prispôsobili minimálny počiatočný objem, a vírivo premiešavajte vzorku v skúmavke po dobu 15 – 30 sekúnd (ak prepravné médium obsahuje tampón, tento krok vykonajte pred odstránením tampónu). Preneste vzorku do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694) a vložte do nosiča skúmaviek. Prípadne sa môžu použiť primárne skúmavky. Požadovaný minimálny počiatočný objem sa môže meniť v závislosti od použitej primárnej skúmavky. Kompatibilné primárne a sekundárne skúmavky vrátane minimálneho počiatočného objemu potrebného pre každý protokol sú uvedené na stránke www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Prehľad revízií

Prehľad revízií dokumentu	
R2 12/2017	Aktualizácia softvéru QIASymphony verzie 5.0

Aktuálne licenčné informácie a právne informácie špecifické pre produkt nájdete v sprievodcovi alebo používateľskej príručke k súprave QIAGEN®. Sprievodcov a používateľské príručky k súpravám QIAGEN nájdete na lokalite www.qiagen.com alebo o ne môžete požiadať oddelenie technických služieb spoločnosti QIAGEN alebo svojho miestneho distribútora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Registrované názvy, ochranné známky atď. použité v tomto dokumente sa nesmú považovať za známky nechránené podľa zákona, i keď neboli ako také označené príslušným symbolom.
12/2017 HB-0301-S28-002 © 2017 QIAGEN, všetky práva vyhradené.

Objednávky www.qiagen.com/shop | Technická podpora support.qiagen.com | Webová lokalita www.qiagen.com