

decembrie 2017

# Fișă de protocol QIAasymphony<sup>®</sup> SP

## Complex800\_OBL\_V4\_DSP protocol

Acest document este *Fișă de protocol QIAasymphony SP, R2 Complex800\_OBL\_V4\_DSP*, pentru QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versiunea 1.

## Informații generale

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit este destinat utilizării pentru diagnostic in vitro.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
<b>Material de probă</b>	Probe respiratorii și urogenitale
<b>Denumire protocol</b>	Complex800_OBL_V4_DSP
<b>Set implicit de control al dozării</b>	ACS_Complex800_OBL_V4_DSP
<b>Editabil</b>	Volum de eluție: 60 µl, 85 µl, 110 µl
<b>Versiune software necesară</b>	Versiunea 4.0 sau mai recentă

## Sertarul „Sample” (Probă)

<b>Tip probă</b>	Probe respiratorii (BAL, tamponate uscate, mediu de transport, aspirate, salivă) și probe urogenitale (urină, mediu de transport)
<b>Volum probă</b>	Depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizat; pentru mai multe informații, consultați <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Eprubete pentru probă primare</b>	Consultați <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> pentru informații suplimentare
<b>Eprubete pentru probă secundare</b>	Consultați <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> pentru informații suplimentare
<b>Elemente de inserție</b>	Depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizat; pentru mai multe informații, consultați <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Altele</b>	Amestec ARN de transport (CARRIER) – soluție tampon AVE necesar; utilizarea substanței de control interne este opțională

## Sertarul „Reagents and Consumables” (Reactivi și consumabile)

<b>Poziția A1 și/sau A2</b>	Cartuș cu reactivi (Reagent cartridge, RC)
<b>Poziția B1</b>	nu se aplică
<b>Suport al stativului pentru vârfuri 1–17</b>	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 µl
<b>Suport al stativului pentru vârfuri 1–17</b>	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 1500 µl
<b>Suport al cutiilor individuale 1–4</b>	Cutii individuale care conțin cartușe pentru prepararea probelor
<b>Suport al cutiilor individuale 1–4</b>	Cutii individuale care conțin învelișuri pentru 8 tije

n/a = nu se aplică.

## Sertarul „Waste” (Deșeuri)

<b>Suport al cutiilor individuale 1–4</b>	Cutii individuale goale
<b>Suport al pungilor pentru deșeuri</b>	Pungă pentru deșeuri
<b>Suport al flaconului de deșeuri lichide</b>	Flacon de deșeuri lichide

## Sertarul „Eluate” (Eluat)

Stativ de eluție (recomandăm utilizarea fantei 1, poziție de răcire)

Consultați [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) pentru informații suplimentare

## Componente din plastic necesare

	Un lot, 24 de probe*	Două loturi, 48 de probe*	Trei loturi, 72 de probe*	Patru loturi, 96 de probe*
Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 µl†‡	96	96	128	128
Vârfuri cu filtru de unică folosință, 1500 µl†‡	128	192	224	288
Cartușe de preparare a probei§	18	36	54	72
Învelișuri pentru 8 tije¶	3	6	9	12

\* Efectuarea mai multor scanări ale inventarului necesită vârfuri cu filtru de unică folosință suplimentare. Utilizarea a mai puțin de 24 de probe pe lot scade numărul de vârfuri de unică folosință necesar pentru fiecare testare.

† Există 32 de vârfuri cu filtru/stativ pentru vârfuri.

‡ Numărul de vârfuri cu filtru necesare include vârfuri cu filtru pentru 1 scanare a inventarului pe cartuș cu reactivi.

§ Există 28 de cartușe de preparare a probei/cutie individuală.

¶ Există douăsprezece învelișuri pentru 8 tije/cutie individuală.

**Notă:** Numărul specificat de vârfuri cu filtru poate diferi de numărul afișat pe ecranul tactil, în funcție de setări, de exemplu, numărul de substanțe de control interne utilizate pe lot.

## Volum de eluție selectat

Volum de eluție selectat (µl)*	Volum de eluție inițial (µl)†
60	90
85	115
110	140

\* Volumul de eluție selectat pe ecranul tactil. Acesta este volumul minim accesibil de eluat din eprubeta de eluție finală.

† Volumul inițial de soluție de eluție necesară pentru a asigura că volumul de eluat propriu-zis este același cu volumul selectat.

## Prepararea amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE)

Volum de eluție selectat (μl)	Volum ARN de transport (CARRIER) standard (μl)	Volum substanță de control internă (μl)*	Volum soluție tampon AVE (AVE) (μl)	Volum final pe probă (μl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

\* Calculul cantității de substanță de control internă se bazează pe volumele de eluție inițiale. Volumul suplimentar al golurilor depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizate; consultați [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) pentru mai multe informații.

**Notă:** Valorile afișate în tabel se referă la prepararea amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER) pentru un test în aval, care necesită 0,1 μl substanță de control internă/μl eluat.

### Liză realizată în afara aparatului

Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvate. Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de securitate pentru materiale (material safety data sheets, MSDS) corespunzătoare, disponibile de la furnizorul produsului.

Protocoalele QIASymphony Complex constau în 4 etape: liză, legare, spălare, eluție. Pentru unele probe, este utilă efectuarea manuală a lizei, de exemplu, pentru dezactivarea patogenilor într-un dulap de Biosafety. Protocolul Complex800\_OBL\_V4\_DSP permite efectuarea manuală a lizei, într-un mod similar cu cel al protocolului Complex800\_V6\_DSP. Probele tratate în prealabil sunt transferate la QIASymphony SP și sunt procesate cu protocolul Complex800\_OBL\_V4\_DSP.

**Notă:** Protocolul Complex800\_OBL\_V4\_DSP necesită soluție tampon ACL și soluție tampon ATL (ATL). Soluția tampon ACL (cat. nr. 939017) și soluția tampon ATL (ATL) (cat. nr. 939016) nu fac parte din QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit și trebuie comandate separat.

### Liza manuală

1. Pipetați 80 μl de proteinază K, 295 μl de soluție tampon ATL (ATL), 120 μl de amestec de ARN de transport–substanță de control internă și 560 μl de soluție tampon ACL într-o eprubetă de 4,5 ml (eprubetă din polipropilenă Nunc CryoTube 12.5 x 92 mm, 4,5 ml, Nunc cat. nr. 363452).

**Notă:** Dacă vor fi procesate mai multe probe folosind liza manuală, poate fi preparată o soluție standard a acestei soluții. Pur și simplu înmulțiți volumele necesare pentru o probă cu numărul total de probe care trebuie procesate, și includeți volumul suplimentar în echivalentul a 2 probe suplimentare. Răsturnați eprubeta de mai multe ori pentru a amesteca, transferați 1055  $\mu$ l într-o eprubetă de 4,5 ml pentru fiecare probă, apoi continuați pentru fiecare probă cu pasul 4.

2. Închideți capacul și amestecați prin răsturnarea de 5 ori a eprubetei.
3. Centrifugați pentru scurt timp eprubeta pentru a elimina picăturile din interiorul capacului.
4. Adăugați 800  $\mu$ l de probă în eprubetă, închideți capacul și amestecați prin vortexare prin impuls, timp de 10 secunde.
5. Incubați tubul la 68 °C timp de 15 minute ( $\pm$  1 minut).
6. Centrifugați pentru scurt timp eprubeta pentru a elimina picăturile din interiorul capacului. Introduceți elementele de inserție pentru eprubetele pentru probă corespunzătoare într-un suport de eprubete și încărcați eprubetele pentru probă (fără capace).

## Prepararea probelor

### Urină

Urina poate fi procesată fără o tratare prealabilă. Sistemul este optimizat pentru probe de urină pure, care nu conțin conservanți. Pentru a mări sensibilitatea la patogeni bacterieni, probele pot fi centrifugate. După eliminarea lichidului supernatant, peletul poate fi resuspendat în minimum 800  $\mu$ l de soluție tampon ATL (ATL) (cat. nr. 939016). Utilizați 800  $\mu$ l din materialul tratat în prealabil, ca probă pentru prepararea lizei realizate în afara aparatului.

### Izolarea ADN-ului genomic din bacteriile Gram-pozitive

Purificarea ADN-ului poate fi îmbunătățită pentru unele bacterii Gram-pozitive prin tratarea enzimatică prealabilă, înainte de transferul probei la QIASymphony SP și înainte de inițierea protocolului Complex800\_OBL\_V4\_DSP.

1. Peletați bacteriile prin centrifugare la 5000 x g timp de 10 minute.
2. Suspendați peletul bacterian în 800  $\mu$ l de soluție enzimatică adecvată (20 mg/ml lizozimă sau 200  $\mu$ g/ml lizostafină; 20 mM Tris·HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X--100).
3. Incubați la 37 °C timp de minimum 30 de minute ( $\pm$  2 minute).
4. Centrifugați pentru scurt timp eprubeta pentru a elimina picăturile din interiorul capacului.
5. Utilizați 800  $\mu$ l din materialul tratat în prealabil, ca probă pentru prepararea lizei realizate în afara aparatului.

## Probe vâscoase sau mucoase

Unele probe (de exemplu, salivă, aspirate respiratorii) pot fi vâscoase și necesită lichefierea pentru a permite pipetarea. Probele cu viscozitate redusă nu necesită o preparare suplimentară. Probele cu viscozitate de la medie la ridicată trebuie preparate după cum urmează:

1. Diluați proba 1:1 cu Sputasol\*† (Oxoid, cat. nr. SR0233) sau cu 0,3% (w/v) DTT.  
**Notă:** Soluția de 0,3% DTT poate fi realizată în prealabil și depozitată la –20 °C în alicote corespunzătoare. Alicotele decongelate trebuie aruncate după utilizare.
2. Incubați la 37 °C până când viscozitatea probei este adecvată pentru pipetare.
3. Utilizați 800 µl din materialul tratat în prealabil, ca probă pentru prepararea lizei realizate în afara aparatului.

## Tampoane uscate cu fluide corporale și cu secreții

1. Scufundați vârful tamponului uscat în 1050 µl de soluție tampon ATL (ATL) (cat. nr. 939016) și incubați la 56 °C timp de 15 minute (± 1 minut), amestecând în continuu. Dacă amestecarea nu este posibilă, vortexați înainte și după incubare, timp de minimum 10 secunde.
2. Scoateți tamponul și stoarceți tot lichidul, prin apăsarea tamponului pe interiorul eprubetei.
3. Utilizați 800 µl din materialul tratat în prealabil, ca probă pentru prepararea lizei realizate în afara aparatului.

**Notă:** Acest protocol este optimizat pentru tampoane din bumbac sau din polietilenă. La utilizarea unor tampoane diferite, poate fi necesară ajustarea volumului de soluție tampon ATL (ATL) pentru a vă asigura că este disponibil material de probă într-o cantitate minimă de 800 µl.

\* Sputasol (Oxoid, cat. nr. SR0233, [www.oxid.com](http://www.oxid.com)) sau ditiotreitrol (dithiothreitrol, DTT).

† Aceasta nu este o listă completă a furnizorilor.

## Tampoane respiratorii sau urogenitale

Mediul de depozitare pentru tampoanele respiratorii sau urogenitale poate fi folosit fără tratare prealabilă. Dacă tamponul nu a fost scos, apăsați-l de peretele eprubetei pentru a stoarce lichidul. Orice mucus în exces în specimen trebuie eliminat în acest moment, prin colectarea acestuia pe tampon. Orice lichid rezidual din mucus și din tampon trebuie stors ulterior, prin apăsarea tamponului pe peretele eprubetei. În cele din urmă, tamponul și mucusul trebuie scoase și aruncate. Dacă probele sunt vâscoase, efectuați pasul de lichefiere (consultați secțiunea „Probe vâscoase sau mucoase” de mai sus), înainte să transferați proba pe QIASymphony SP. Dacă materialul inițial nu este suficient, pipetați soluția tampon ATL (ATL) în mediul de transport pentru a ajusta volumul inițial minim necesar și vortexați proba timp de 15–30 de secunde în eprubetă (dacă mediul de transport conține tamponul, efectuați acest pas înainte de scoaterea tamponului). Utilizați 800 µl din material ca probă pentru prepararea lizei realizate în afara aparatului.

## Istoricul reviziilor

Istoricul reviziilor documentului	
R2 12/2017	Actualizare pentru software-ul QIASymphony versiunea 5.0

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN® respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kit-urile QIAGEN sunt disponibile pe [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) sau pot fi solicitate de la Serviciul tehnic QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege. 12/2017 HB-0301-S31-002 © 2017 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

---

Pentru comenzi [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Suport tehnic [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)