

QIASymphony SP list protokola

Complex800_OBL_V4_DSP protokol

Opće informacije

Za in vitro dijagnostičku uporabu.

Kit	QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Materijal uzorka	Respiratorni i urogenitalni uzorci
Naziv protokola	Complex800_OBL_V4_DSP
Dodijeljen set kontrola ispitivanja	ACS_Complex800_OBL_V4_DSP
Moguće urediti	Volumen eluata: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Potrebna verzija softvera	Verzija 4.0

Ladica uzorka "Sample"

Vrsta uzorka	Respiratorni uzorci (BAL, osušeni obrisci, transportni medij, aspirati, sputum) i urogenitalni uzorci (mokraća, transportni medij)
Volumen uzorka	Ovisi o vrsti korištene epruvete za uzorak, za više informacija pogledati www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Primarne epruvete za uzorke	Za više informacija pogledati www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Sekundarne epruvete za uzorke	Za više informacija pogledati www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Umeci	Ovisi o vrsti korištene epruvete za uzorak, za više informacija pogledati www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Drugo	Potrebna je smjesa nosača RNA i pufera AVE (Carrier RNA–Buffer AVE); korištenje unutarnje kontrole prema izboru

Ožujak 2012



Sample & Assay Technologies

Ladica reagensa i potrošnog materijala "Reagents and Consumables"

Pozicija A1 i/ili A2	Kazeta reagensa (RC)
Pozicija B1	n/a
Držać stalka s nastavcima 1-17	Jednokratni nastavci s filtrima, 200 µl
Držać stalka s nastavcima 1-17	Jednokratni nastavci s filtrima, 1500 µl
Držać bloka kutije 1-4	Blokovi kutija sadrže kazete za pripremu uzoraka
Držać bloka kutije 1-4	Blokovi kutija sadrže pokrove s 8 štapića

n/a = nije primjenjivo.

Ladica otpada "Waste"

Držać bloka kutije 1-4	Prazni blokovi kutija
Držać vrećice za otpad	Vrećica za otpad
Držać boce tekućeg otpada	Boca tekućeg otpada

Ladica eluata "Eluate"

Stalak za eluiranje (preporučamo korištenje ležišta 1, pozicija hlađenja)	Za više informacija pogledati www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
--	--

Potreban plastični pribor

	Jedna serija, 24 uzorka*	Dvije serije, 48 uzoraka*	Tri serije, 72 uzorka*	Četiri serije, 96 uzoraka*
Jednokratni nastavci s filtrima, 200 μ l ^{†‡}	96	96	128	128
Jednokratni nastavci s filtrima, 1500 μ l ^{†‡}	128	192	224	288
Kazete za pripremu uzorka [§]	18	36	54	72
Pokrovi s 8 štapića [¶]	3	6	9	12

* Izvođenje više od jednog pregleda inventara zahtjeva dodatne jednokratne nastavke s filtrima. Korištenje manje od 24 uzoraka po seriji umanjuje broj potrebnih jednokratnih nastavaka potrebnih za seriju.

† Na jednom stalku ima 32 nastavka s filtrima.

‡ Broj potrebnih nastavaka s filtrima uključuje nastavke s filtrima za 1 pregled inventara po kazeti s reagensima.

§ U jednom bloku kutije ima 28 kazeta za pripremu uzorka.

¶ U jednom bloku kutije ima dvanaest pokrova s 8 štapića.

Napomena: Navedeni brojevi nastavaka s filtrom mogu se razlikovati od brojeva prikazanih na zaslonu osjetljivom na dodir ovisno o postavkama, na primjer, broju unutarnjih kontrola korištenih u seriji ispitivanja.

Odabran volumen eluiranja

Odabran volumen eluiranja (μ l)*	Početni volumen eluiranja (μ l) [†]
60	90
85	115
110	140

* Volumen eluiranja odabran na zaslonu. Ovo je najmanji dostupni volumen eluata u konačnoj epruveti za eluiranje.

† Početni volumen otopine za eluiranje potreban za osiguranje da je stvarni volumen eluata isti kao odabrani volumen.

Priprema smjese unutarnje kontrole–nosača RNA (CARRIER) i pufera AVE (AVE)

Odabran volumen eluiranja (μ l)	Volumen matične otopine nosača RNA (CARRIER) (μ l)	Volumen unutarnje kontrole (μ l)*	Volumen pufera AVE (AVE) (μ l)	Konačan volumen po uzorku (μ l)
60	3	9	108	120
85	3	11.5	105.5	120
110	3	14	103	120

* Izračun količine unutarnje kontrole se temelji na početnim volumenima eluiranja. Dodatni ostatni volumen ovisi o vrsti uzorka koji će se koristiti; za više informacija pogledati www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Napomena: Vrijednosti prikazane u tablici su za pripremu smjese unutarnje kontrole – nosača RNA (CARRIER) za ispitivanje koje slijedi koje zahtjeva 0.1 μ l unutarnje kontrole/ μ l eluata.

Liziranje izvan uređaja

Kada radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajući laboratorijski ogrtač, jednokratne rukavice i zaštitne naočale. Za više informacija pogledajte odgovarajuće sigurnosno-tehničke listove (engl. material safety data sheets, MSDS) dostupne od dobavljača proizvoda.

QIASymphony Complex protokoli se sastoje od 4 koraka: liziranje, vezanje, pranje eluiranje. Za neke je uzorke korisno provesti ručno liziranje, na primjer, za inaktivaciju patogena u biosigurnosnom kabinetu. Complex800_OBL_V4_DSP protokol omogućuje izvođenje ručnog liziranja na sličan način kao i s protokolom Complex800_V6_DSP. Pretretirani uzorci se prenose na QIASymphony SP i obrađuju prema Complex800_OBL_V4_DSP protokolu.

Napomena: Complex800_OBL_V4_DSP protokol zahtjeva pufer ACL i pufer ATL (ATL). Pufer ACL (kat. br. 939017) i pufer ATL (ATL) (kat. br. 939016) nisu dio QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kita i treba ih zasebno naručiti.

Ručno liziranje

1. **Pipetirajte 80 μ l proteinaze K, 295 μ l pufera ATL (ATL), 120 μ l smjese nosača RNA i unutarnje kontrole i 560 μ l pufera ACL u jednu epruvetu od 4.5 ml (Nunc CryoTube 12.5 x 92 mm, 4.5 ml polipropilenska epruveta, Nunc kat. br. 363452).**

Napomena: Kada će ručnim liziranjem biti obrađeno više od jednog uzorka, za ovu otopinu se može pripremiti matična otopina. Jednostavno pomnožite volumene potrebne za jedan

uzorak s ukupnim brojem uzoraka za obradu i uključite dodatni volumen potreban za dva dodatne uzorka. Okrenite epruvetu nekoliko puta zbog miješanja, prebacite 1055 μ l u epruvetu od 4,5 ml za svaki uzorak, a zatim nastavite za svaki uzorak s korakom 4.

- 2. Zatvorite poklopac i miješajte okrećući epruvetu 5 puta.**
- 3. Kratko centrifugirajte epruvetu zbog uklanjanja kapljica iz unutrašnjosti poklopca.**
- 4. Dodajte 800 μ l uzorka u epruvetu, zatvorite poklopac i miješajte pulsним vrtloženjem kroz 10 sekundi.**
- 5. Inkubirajte epruvetu na 68°C kroz 15 minuta (\pm 1 minuta).**
- 6. Kratko centrifugirajte epruvetu zbog uklanjanja kapljica iz unutrašnjosti poklopca.**
- 7. Postavite umetke za odgovarajuće epruvete s uzorcima u nosač epruveta i ubacite epruvete s uzorcima (bez poklopca).**

Priprema materijala uzorka

Mokraća

Mokraća se može obrađivati bez daljnje pripreme. Sustav je optimiran za čiste uzorke urina koji ne sadrže konzervanse. Zbog povećanja osjetljivosti na bakterijske patogene, uzorci se mogu centrifugirati. Nakon odbacivanja supernatanta, talog se može resuspendirati u najmanje 800 μ l pufera ATL (ATL) (kat. br. 939016). Upotrijebite 800 μ l pripremljenog materijala kao uzorak za izvođenje liziranja izvan uređaja.

Izolacija genomske DNA iz Gram-pozitivnih bakterija

Pročišćavanje DNA se može poboljšati za neke Gram-pozitivne bakterije enzimskim pretretiranjem prije prijenosa uzorka u QIASymphony SP i početka Complex800_OBL_V4_DSP protokola.

- 1. Istaložite bakterije centrifugiranjem na 5000 x g kroz 10 minuta.**
- 2. Otopite talog bakterija u 800 μ l odgovarajuće otopine enzima (20 mg/ml lizozima ili 200 μ g/ml lizostafina; 20 mM Tris·HCl, pH 8.0; 2 mM EDTA; 1.2% Triton X-100).**
- 3. Inkubirajte na 37°C kroz najmanje 30 minuta (\pm 2 minute).**
- 4. Kratko centrifugirajte epruvetu zbog uklanjanja kapljica iz unutrašnjosti poklopca.**
- 5. Upotrijebite 800 μ l pretretiranog materijala za pripremu liziranja van uređaja.**

Viskozni ili mukozni uzorci

Neki uzorci (npr., sputum, respiratorni aspirati) mogu biti viskozni i zahtjevati likvefakciju zbog omogućavanja pipetiranja. Uzorci niske viskoznosti ne zahtijevaju dodatnu pripremu. Srednje do visoko viskozne uzorke treba pripremiti kako slijedi:

- 1. Razrijedite uzorak 1:1 s Sputasolom*[†] (Oxoid, kat. br. SR0233) ili 0.3% (w/v) DTTom.**
Napomena: 0.3 % otopina DTTa se može unaprijed pripremiti i čuvati na –20°C u odgovarajućim alikvotima. Otopljene alikvote treba baciti nakon uporabe.
- 2. Inkubirajte na 37°C dok viskoznost uzorka ne bude pogodna za pipetiranje.**
- 3. Upotrijebite 800 µl predretiranog materijala za pripremu liziranja van uređaja.**

Osušene tjelesne tekućine i sekrecijski obrisci

- 1. Uronite osušeni štapić s obriskom u 1050 µl pufera ATL (ATL) (kat. br. 939016) i inkubirajte na 56°C kroz 15 minuta (± 1 minuta), uz neprestano miješanje. Ako miješanje nije moguće, vrtložite prije i nakon inkubacije kroz najmanje 10 sekundi.**
- 2. Uklonite obrisak i istisnite svu tekućinu pritiskujući obrisak na unutrašnjost epruvete.**
- 3. Upotrijebite 800 µl pretretiranog materijala za pripremu liziranja van uređaja.**
Napomena: Ovaj je protokol optimiran za pamučne ili polietilenske obriske. Kada koristite druge obriske, može biti potrebno prilagoditi volumen pufera ATL (ATL) zbog osiguranja da će biti dostupno barem 800 µl materijala uzorka.

Respiratorni ili urogenitalni obrisci

Medij za čuvanje respiratornih i urogenitalnih obrisaka se može koristiti bez predpripreme. Ako obrisak nije uklonjen, pritisnite obrisak na stranicu epruvete kako biste istisnuli tekućinu. Suvišni mucus u uzorku treba u ovom trenutku ukloniti skupljajući ga obriskom. Ostatnu tekućinu iz mukusa i s obriska zatim treba istisnuti pritiskujući obrisak na stranicu epruvete. Na kraju treba obrisak i mukus ukloniti i baciti. Ako su uzorci viskozni, provedite korak likvefakcije (pogledajte iznad "Viskozni ili mukozni uzorci") prije prebacivanja uzorka u QIASymphony SP. Ako nema dovoljno početnog materijala, pipetirajte puffer ATL (ATL) u transportni medij kako biste prilagodili potrebni najmanji početni volumen i vrtložite uzorak u epruveti tijekom 15–30 sekundi (ako transportni medij sadrži obrisak, izvedite ovaj korak prije uklanjanja obriska). Upotrijebite 800 µl pretretiranog materijala za pripremu liziranja van uređaja.

* Sputasol (Oxoid, kat. br. SR0233, www.oxoid.com) ili ditiotreititol (DTT).

[†] Ovo nije potpuni popis dobavljača.

Za ažurirane informacije o licenciranju te za proizvode specifična ograničenja, pogledajte odgovarajući QIAGEN priručnik ili uputu. QIAGEN priručnici se mogu zatražiti od QIAGENove tehničke podrške ili Vašeg lokalnog distributera. Odabrani se priručnici mogu preuzeti s www.qiagen.com/literature. Sigurnosno-tehničke listove (MSDS) za bilo koji QIAGENov proizvod možete preuzeti s www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx.

Zaštitni znakovi: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Zaštićena imena, zaštitni znakovi, itd. korišteni u ovom dokumentu, čak i ako nisu posebno označeni kao takvi, ne mogu se smatrati nezaštićeni zakonom.
© 2012 QIAGEN, sva prava pridržana.

www.qiagen.com

Australia ■ 1-800-243-800

Austria ■ 0800/281010

Belgium ■ 0800-79612

Canada ■ 800-572-9613

China ■ 021-51345678

Denmark ■ 80-885945

Finland ■ 0800-914416

France ■ 01-60-920-930

Germany ■ 02103-29-12000

Hong Kong ■ 800 933 965

Ireland ■ 1800 555 049

Italy ■ 800 787980

Japan ■ 03-5547-0811

Korea (South) ■ 1544 7145

Luxembourg ■ 8002 2076

The Netherlands ■ 0800 0229592

Norway ■ 800-18859

Singapore ■ 65-67775366

Spain ■ 91-630-7050

Sweden ■ 020-790282

Switzerland ■ 055-254-22-11

UK ■ 01293-422-911

USA ■ 800-426-8157



Sample & Assay Technologies