

decembrie 2017

Fișă de protocol QIAasymphony[®] SP

Complex400_V4_DSP protocol

Acest document este *Fișa de protocol QIAasymphony SP, R2 Complex400_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.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Material de probă	Probe respiratorii și urogenitale
Denumire protocol	Complex400_V4_DSP
Set implicit de control al dozării	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Editabil	Volum eluat: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Versiune software necesară	Versiunea 4.0 sau mai recentă

Sertarul „Sample” (Probă)

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

Sertarul „Reagents and Consumables” (Reactivi și consumabile)

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

Sertarul „Waste” (Deșeuri)

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

Sertarul „Eluate” (Eluat)

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

Consultați 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†‡	34	60	86	112
Vârfuri cu filtru de unică folosință, 1500 µl†‡	123	205	295	385
Cartușe de preparare a probei§	18	36	54	72
Învelișuri pentru 8 tije¶	3	6	9	12

* Utilizarea mai multor substanțe de control interne pe lot și 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 cu filtru 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 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.

Eprubetele care conțin amestec de substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE) sunt introduse într-un suport de eprubete. Suportul de eprubete care conțin amestecul (amestecurile) de substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE) trebuie introdus în fanta A a sertarului pentru probe.

În funcție de numărul de probe care trebuie procesate, recomandăm utilizarea tuburilor de 2 ml (Sarstedt, cat. nr. 72.693 sau 72.694) sau a eprubetelor de 14 ml 17 x 100 mm din polistiren, cu fund rotund (Becton Dickinson, cat. nr. 352051) pentru diluarea substanței de control interne, conform descrierii din tabelul de mai jos. Volumul poate fi împărțit în 2 sau mai multe eprubete.

Calculul volumului amestecului de substanță de control internă

Tip eprubetă	Nume pe ecranul tactil QIASymphony	Calculul volumului amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE) pe eprubetă
Microeprubetă 2 ml cu capac; microeprubetă 2 ml, PP, CU GULER, (Sarstedt, cat. nr. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microeprubetă 2 ml cu capac; microeprubetă 2 ml, PP, FĂRĂ GULER, (Sarstedt, cat. nr. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Eprubetă 14 ml, 17 x 100 mm din polistiren, cu fund rotund (Becton Dickinson, cat. nr. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utilizați această ecuație pentru a calcula volumul necesar de amestec de substanță de control internă (n = numărul probelor; $120 \mu\text{l}$ = volumul amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = volumul golurilor necesar pe eprubetă). De exemplu, pentru 12 probe ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Nu umpleți eprubeta mai mult de 1,9 ml (adică maxim 12 de probe pe eprubetă). Dacă vor fi procesate mai mult de 12 de probe, utilizați eprubete suplimentare, asigurându-vă că volumul golurilor este adăugat la fiecare eprubetă în parte.

† Utilizați această ecuație pentru a calcula volumul necesar de amestec de substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE) (n = numărul probelor; $120 \mu\text{l}$ = volumul amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–soluție tampon AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = volumul golurilor necesar pe eprubetă). De exemplu, pentru 96 probe ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

Consultați www.qiagen.com/goto/dsphandbooks pentru elementele de inserție necesare.

Utilizarea instrumentarului de laborator FIX

Utilizarea detecției nivelului de lichid (liquid-level detection, LLD) pentru transferul probei permite utilizarea eprubetelor primare și a celor secundare. Totuși, aceasta necesită anumite volume moarte în eprubetele respective. Pentru a reduce la minimum volumele moarte, eprubetele secundare trebuie utilizate fără detecția nivelului de lichid. Este disponibil instrumentar de laborator FIX specific (de exemplu, SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), care poate fi selectat și pe ecranul tactil al QIASymphony SP. Acest tip de eprubetă/stativ impune restricții privitoare la aspirare. Proba este aspirată în eprubetă la o anumită înălțime, definită de volumul probei care trebuie transferată. Prin urmare, este esențial să vă asigurați că este folosit volumul menționat în lista instrumentarului de laborator. Listele instrumentarului de laborator sunt disponibile pentru descărcare la www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

De asemenea, eprubetele pentru probă care pot fi folosite cu sau fără detecția nivelului de lichid, precum și volumele necesare ale probelor, sunt menționate la www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Nu utilizați volume mai mari sau mai mici decât volumul necesar, deoarece acestea pot genera erori în timpul preparării probelor.

Eprubetele pentru detecția nivelului de lichid și eprubetele care nu sunt destinate detecției nivelului de lichid pot fi procesate în cadrul unui singur lot/unei singure testări.

Prepararea probelor

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.

Urină

Urina poate fi procesată fără o tratare prealabilă. Transferați proba într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694) și introduceți proba în suportul de eprubete. Alternativ, pot fi utilizate eprubete primare. Volumul inițial minim necesar poate varia, în funcție de eprubeta primară folosită. Formatele de eprubete primare și secundare compatibile, inclusiv volumul inițial minim necesar pentru fiecare protocol, sunt menționate la www.qiagen.com/goto/dsphanbooks. 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 500 µl de soluție tampon ATL (ATL) (cat. nr. 939016). Transferați proba într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694). Introduceți proba în suportul de eprubete și procesați proba folosind protocolul Complex400_V4_DSP și instrumentarul de laborator FIX necesar.

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 Complex400_V4_DSP.

1. Peletați bacteriile prin centrifugare la 5000 x g timp de 10 minute.
2. Suspendați peletul bacterian în 500 µl de soluție enzimatică adecvată (20 mg/ml lizozimă sau 200 µg/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 (± 2 minute).
4. Centrifugați pentru scurt timp eprubeta pentru a elimina picăturile din interiorul capacului.
5. Transferați proba într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694), introduceți proba în suportul de eprubete, și continuați cu protocolul Complex400_V4_DSP folosind instrumentarul de laborator FIX necesar.

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 0,3% (w/v) DTT poate fi realizată în prealabil și depozitată în alicote la –20 °C. După utilizare, aruncați alicotele decongelate.
2. Incubați la 37 °C până când viscozitatea probei este adecvată pentru pipetare.
3. Transferați cel puțin 500 µl de probă într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694). Procesati proba utilizând protocolul Complex400_V4_DSP.

Tampoane uscate cu fluide corporale și cu secreții

1. Scufundați vârful tamponului uscat în 750 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. Transferați cel puțin 500 µl de probă într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694). Procesati proba cu protocolul Complex400_V4_DSP.

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 500 µl.

* Sputasol (Oxoid, cat. nr. SR0233, www.oxoid.com) sau ditiotreitrol (dithiothreitrol, DTT).

† Aceasta nu este o listă completă a furnizorilor.

Tampoane respiratorii sau urogenitale depozitate în mediul de transport

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). Transferați proba într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694) și introduceți proba în suportul de eprubete. Alternativ, pot fi utilizate eprubete primare. Volumul inițial minim necesar poate varia, în funcție de eprubeta primară folosită. Eprubetele primare și secundare compatibile, inclusiv volumul inițial minim necesar pentru fiecare protocol, sunt menționate la www.qiagen.com/goto/dsphanbooks.

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 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-S28-002 © 2017 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

Pentru comenzi www.qiagen.com/shop | Suport tehnic support.qiagen.com | Site web www.qiagen.com