

Joulukuu 2017

QIASymphony[®] SP -protokollalomake

Complex800_OBL_V4_DSP -protokolla

Tämä asiakirja on Complex800_OBL_V4_DSP QIASymphony SP -protokollalomake, R2, QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -tarvikesarjalle, versio 1.

Yleistä

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit -tarvikesarja on tarkoitettu in vitro -diagnostiikkaan.

Sarja	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -tarvikesarja
Näytemateriaali	Hengitysteiden ja urogenitaali-alueen näytteet
Protokollan nimi	Complex800_OBL_V4_DSP
Analyysin kontrollin oletusasetus	ACS_Complex800_OBL_V4_DSP
Muokattavissa	Eluutiolavuus: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Tarvittava ohjelmistoversio	Versio 4.0 tai uudempi

Sample (Näyte) -lokero

Näytetyyppi	Hengitysteiden näytteet (BAL-neste, kuivat näytetikut, kuljetusaine, aspiraatiit, yskös) ja urogenitaaliset näytteet (virtsa, kuljetusaine)
Näytemäärä	Käytetyn näyteputken mukaan. Lisätietoja on osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Ensisijaiset näyteputket	Lisätietoja on osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Toissijaiset näyteputket	Lisätietoja on osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Asettimet	Käytetyn näyteputken mukaan. Lisätietoja on osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Muu	Kantaja-RNA:n ja AVE-puskurin seos tarvitaan. Sisäisen kontrollin käyttö on valinnaista.

Reagents and Consumables (Reagenssit ja tarvikkeet) -lokero

Asento A1 ja/tai A2	Reagenssikasetti (Reagent cartridge, RC)
Asento B1	–
Kärkitelineen pidike 1–17	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl
Kärkitelineen pidike 1–17	Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1500 µl
Yksikkölaatikon pidike 1–4	Yksikkölaatikot sisältävät näytteen valmistelukasetit
Yksikkölaatikon pidike 1–4	Yksikkölaatikot sisältävät kannet 8-tangolle

n/a = ei oleellinen.

Waste (Jäte) -lokero

Yksikkölaatikon pidike 1–4	Tyhjät yksikkölaatikot
Jätepussin pidike	Jätepussi
Nestejätepullan pidike	Nestejätepullo

Eluate (Eluaatti) -lokero

Eluaattiteline (suositus: aukko 1, jäädytyspaikka)

Lisätietoja on osoitteessa
www.qiagen.com/goto/dsphandbooks

Tarvittavat laboratoriotarvikkeet

	Yksi erä, 24 näytettä*	Kaksi erää, 48 näytettä*	Kolme erää, 72 näytettä*	Neljä erää, 96 näytettä*
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 200 µl†	96	96	128	128
Kertakäyttöiset suodatinkärjet, 1500 µl†	128	192	224	288
Näytteen valmistelukasetit‡	18	36	54	72
8-sauvaiset kannet¶	3	6	9	12

* Jos tarvikkeet tarkistetaan useammin kuin kerran, tarvitaan lisää kertakäyttöisiä suodatinkärkiä. Jos erässä käytetään alle 24 näytettä, ajossa tarvitaan vähemmän kertakäyttöisiä kärkiä.

† Suodatinkärkiä on 32 kärkitelinettä kohti.

‡ Tarvittavien suodatinkärkien määrä sisältää suodatinkärjet yhteen tarvikkeiden tarkistukseen reagenssikasettia kohti.

§ Näytteen valmistelukasetteja on 28 yksikkölaatikkoa kohti.

¶ 8-sauvaisia kansiä on 12 yksikkölaatikkoa kohti.

Huomautus: Mainittu suodatinkärkien määrä voi poiketa kosketusnäytössä näkyvästä luvusta asetusten mukaan. Tähän vaikuttaa esimerkiksi erässä käytettävien sisäisten kontrollien määrä.

Valittu eluaattitilavuus

Valittu eluaattitilavuus (µl)*	Alkuperäinen eluaattitilavuus (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Kosketusnäytöstä valittu eluaattitilavuus. Tämä on pienin käytettävissä oleva eluaattitilavuus viimeisessä eluutioputkessa.

† Alkuperäinen eluutioliuoksen tarvittava tilavuus, jolla varmistetaan, että eluaatin todellinen tilavuus on sama kuin valittu tilavuus.

Sisäisestä kontrollista, kantaja-RNA:sta ja AVE-puskurista koostuvan seoksen valmistaminen

Valittu eluaattitilavuus (µl)	Kantaja-RNA:n tilavuus (CARRIER) (µl)	Sisäisen kontrollin tilavuus (µl)*	AVE-puskurin tilavuus (AVE) (µl)	Lopullinen näytekohtainen tilavuus (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Sisäisen kontrollin tilavuus lasketaan eluaatin alkuperäisten tilavuuksien perusteella. Tyhjä tilavuus määräytyy käytetyn näyteputken mukaan. Lisätietoja on osoitteessa www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Huomautus: Taulukon arvot koskevat sisäisen kontrollin ja kantaja-RNA:n (CARRIER) seoksen valmistamista myöhempää testiä varten, jonka tarvittava määrä on 0,1 µl sisäistä kontrollia / µl eluaatti.

Off-Board Lysis -protokolla

Työskennellessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoja saat tuotekohtaisista käyttöturvallisuustiedotteista (material safety data sheets, MSDSs), jotka ovat saatavana tuotteen toimittajalta.

QIASymphony Complex -protokollissa on 4 vaihetta: lyysaus, sitominen, pesu ja eluointi. Joidenkin näytteiden lyysaus kannattaa tehdä manuaalisesti, esimerkiksi kun patogeeneit inaktivoidaan bioturvallisessa kaapissa. Complex800_OBL_V4_DSP -protokollan avulla manuaalinen lyysaus voidaan tehdä samalla tavalla kuin Complex800_V6_DSP -protokollassa. Esikäsitellyt näytteet siirretään QIASymphony SP -laitteeseen ja käsitellään Complex800_OBL_V4_DSP-protokollan mukaisesti.

Huomautus: Complex800_OBL_V4_DSP-protokollassa tarvitaan ACL- ja ATL-puskuria. ACL-puskuri (luettelonumero 939017) ja ATL-puskuri (ATL) (luettelonumero 939016) eivät kuulu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit -tarvikesarjaan ja ne on tilattava erikseen.

Manuaalinen lyysaus

1. Pipetoi 80 µl proteinaasi K:ta, 295 µl ATL-puskuria, 120 µl kantaja-RNA:n sisäistä kontrolliseosta ja 560 µl ACL-puskuria 4,5 ml:n Sarstedt-putkeen (Nunc CryoTube 12,5 x 92 mm, 4,5 ml:n polypropeeniputki, Nunc-luettelonumero 363452).

Huomautus: Kun manuaalisessa lyysauksessa aiotaan käsitellä useampaa kuin yhtä näytettä, voidaan valmistaa tämän liuoksen varastoliuosta. Kerro yhtä näytettä varten tarvittavat määrät käsiteltävien näytteiden kokonaismäärällä ja sisällytä lisämäärä, joka

vastaa kahta ylimääräistä näytettä. Sekoita kääntelemällä putkea useita kertoja, siirrä 1 055 µl 4,5 ml:n putkeen jokaista näytettä varten ja jatka sitten vaiheesta 4.

2. Sulje korkki ja sekoita kääntelemällä putkea 5 kertaa.
3. Poista tipat korkin sisäpuolelta käyttämällä putkea nopeasti sentrifugissa.
4. Lisää putkeen 800 µl näytettä, sulje korkki ja sekoita pulssivorteksilla 10 sekunnin ajan.
5. Inkuboi putkea 68 °C:n lämpötilassa 15 minuutin ajan (± 1 minuutti).
6. Poista tipat korkin sisäpuolelta käyttämällä putkea nopeasti sentrifugissa. Aseta näyteputkien asettimet putkialustalle ja aseta näyteputket laitteeseen (ilman korkkeja).

Näyttemateriaalin valmistelu

Virtsa

Virtsa voidaan käsitellä ilman muuta esikäsittelyä. Järjestelmä on optimoitu puhtaille virtsanäytteille, joissa ei ole säilytysaineita. Näytteiden patogeeneihin liittyvää herkkyyttä voidaan lisätä käyttämällä näytteet sentrifugissa. Pinnalla kelluvan osan poistamisen jälkeen pelletti voidaan suspendoida uudelleen ATL-puskurissa (ATL), jonka tilavuus on vähintään 800 µl (luettelonumero 939016). Käytä 800 µl esikäsittelyä materiaalia näytteenä OBS (Off-Board Lysis) -vaiheen valmistelua varten.

Genomisen DNA:n eristäminen grampositiivisista bakteereista

Joidenkin grampositiivisten bakteerien DNA:n puhdistusta voidaan parantaa entsyymaattisella esikäsittelyllä ennen näytteen siirtämistä QIASymphony SP -laitteeseen ja Complex800_OBL_V4_DSP-protokollan aloittamista.

1. Pelletoi bakteereita käyttämällä sentrifugissa 5 000 x g 10 minuuttia.
2. Suspendoi bakteeripelletti sopivassa entsyymiliuoksessa (800 µl) (20 mg/ml lysotsyymiä tai 200 µg/ml lysostafiinia; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % Triton X-100).
3. Inkuboi 37°C:n lämpötilassa vähintään 30 minuutin ajan (± 2 minuuttia).
4. Poista tipat korkin sisäpuolelta käyttämällä putkea nopeasti sentrifugissa.
5. Käytä 800 µl esikäsittelyä materiaalia näytteenä OBS (Off-Board Lysis) -vaiheen valmistelua varten.

Viskoosit tai limaiset näytteet

Jotkin näytteet (kuten yskökset ja hengitysteiden aspiraatiitit) saattavat olla viskooseja ja ne on nesteytettävä pipetointia varten. Lisävalmisteluja ei tarvita, jos näytteet ovat vain vähän viskooseja. Jos näytteet ovat jonkin verran tai hyvin viskooseja, ne on valmistettava seuraavalla tavalla:

1. Laimenna näyte 1:1 Sputasolilla*† (Oxoid, luettelonumero SR0233) tai 0,3-prosenttisella (w/v) DTT:llä.

Huomautus: 0,3-prosenttinen DTT-liuos voidaan tehdä etukäteen ja säilyttää $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa sopivissa alikvooteissa. Sulanut alikvootti on hävitettävä käytön jälkeen.

2. Inkuboi $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa, kunnes näytteen viskositeetti soveltuu pipetointiin.
3. Käytä 800 μl esikäsiteltyä materiaalia näytteenä OBS (Off-Board Lysis) -vaiheen valmistelua varten.

Kuivatut ruumiinnesteiden ja eritteiden näytetikut

1. Upota kuivatun näytetikin kärki ATL-puskuriin (ATL) 1050 μl (luettelonumero 939016) ja inkuboi $56\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa 15 minuutin ajan (± 1 minuutti) jatkuvasti sekoittaen. Jos sekoittaminen ei ole mahdollista, käytä vortex-laitteessa ennen inkubointia ja inkuboinnin jälkeen vähintään 10 sekuntia.
2. Ota näytetikku pois ja purista siitä kaikki neste painamalla näytetikkoa putken sisäpintaa vasten.
3. Käytä 800 μl esikäsiteltyä materiaalia näytteenä OBS (Off-Board Lysis) -vaiheen valmistelua varten.

Huomautus: Tämä protokolla on optimoitu pumpuli- ja polyeteenitikuille. Muita näytetikkuja käytettäessä saattaa olla tarpeen muuttaa ATL-puskurin (ATL) tilavuutta, jotta näytemateriaalia on varmasti käytettävissä vähintään 800 μl .

Hengitysteiden ja urogenitaali alueen näytetikut

Hengitysteiden ja urogenitaali alueen näytetikkujen säilytysainetta voidaan käyttää ilman esikäsitelyä. Jos näytetikkuja ei ole otettu pois, purista siitä neste painamalla näytetikku putken kylkeä vasten. Näytteen liiallinen lima on poistettava tässä vaiheessa keräämällä se näytetikin pinnalle. Tämän jälkeen näytetikusta ja limasta jäljelle jäänyt neste on puristettava pois painamalla näytetikku putken kylkeä vasten. Lopuksi näytetikku ja lima poistetaan ja hävitetään. Jos näytteet

* Sputasol (Oxoid, luettelonumero SR0233, www.oxoid.com) tai ditiotreitoli (DTT).

† Toimittajaluettelo ei ole kattava.

ovat viskooseja, tee nesteytysvaihe (ohjeita on edellä kohdassa Viskoosit tai limaiset näytteet) ennen kuin siirrät näytteen QIASymphony SP -laitteeseen. Jos aloitusmateriaalia ei ole tarpeeksi, muuta tarvittavaa pienintä aloitusmäärää pipetoimalla ATL-puskuria kuljetusaineeseen ja käyttämällä näytettä vortex-laitteessa 15–30 sekuntia (jos näytetikku on kuljetusaineessa, tee tämä vaihe ennen näytetikon poistamista). Käytä 800 µl materiaalia näytteenä OBS (Off-Board Lysis) -vaiheen valmistelua varten.

Muutoshistoria

Asiakirjan muutoshistoria	
R2 12/2017	Päivitys QIASymphony-ohjelmistoversiolle 5.0

Voimassa olevat lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet ovat saatavilla tuotekohtaisista QIAGEN®-pakkausten käyttöoppaista tai käsikirjoista. QIAGEN-sarjojen käsikirjat

ja käyttöoppaat löytyvät osoitteesta www.qiagen.com, tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä huollosta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

Tavaramerkit: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty. 12/2017 HB-0301-S31-002 © 2017 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

Tilaukset www.qiagen.com/shop | Tekninen tuki support.qiagen.com | Verkkosivusto www.qiagen.com