

QIASymphony SP list protokola

Complex400_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	Complex400_V4_DSP
Dodijeljen set kontrola ispitivanja	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
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	Pufer ATL (ATL)
Držac stalka s nastavcima 1-17	Jednokratni nastavci s filtrima, 200 μ l
Držac stalka s nastavcima 1-17	Jednokratni nastavci s filtrima, 1500 μ l
Držac bloka kutije 1-4	Blokovi kutija sadrže kazete za pripremu uzoraka
Držac bloka kutije 1-4	Blokovi kutija sadrže pokrove s 8 štapića

Ladica otpada "Waste"

Držac bloka kutije 1-4	Prazni blokovi kutija
Držac vrećice za otpad	Vrećica za otpad
Držac 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 ^{†‡}	34	60	86	112
Jednokratni nastavci s filtrima, 1500 μ l ^{†‡}	123	205	295	385
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.

Epruvete koje sadrže smjesu unutarnje kontrole-nosača RNA (CARRIER)–pufera AVE (AVE) se postavljaju u nosač epruveta. Nosač epruveta koji sadrži smjesu(e) unutarnje kontrole-nosača RNA (CARRIER)–pufera AVE (AVE) mora se postaviti u ležište A ladice za uzorke.

Ovisno o broju uzoraka koje treba obraditi, preporučujemo korištenje epruveta od 2 ml (Sarstedt, kat. br. 72.693 ili 72.694) ili 14 ml 17 x 100 mm polistirenskih epruveta zaobljenog dna (Becton Dickinson, kat. br. 352051) za razrjeđivanje unutarnje kontrole, kako je opisano u tablici na stranici 5. Volumen se može razdijeliti u 2 ili više epruveta.

Izračunavanje volumena smjese unutarnje kontrole

Vrsta epruvete	Naziv na QIAasympyphony zaslonu	Izračun volumena smjese unutarnje kontrole – nosača RNA (CARRIER)–pufera AVE (AVE) po epruveti
Mikroepruveta 2 ml s čepom; mikroepuveta 2 ml, PP, obrubljena, (Sarstedt, kat. br. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Mikroepruveta 2 ml s čepom; mikroepuveta 2 ml, PP, bez ruba, (Sarstedt, kat. br. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Epruveta 14 ml, 17 x 100 mm polistirenska zaobljenog dna (Becton Dickinson, kat. br. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Koristite ovu jednadžbu za izračun potrebnog volumena smjese unutarnje kontrole –nosača RNA (CARRIER)–pufera AVE (AVE) (n = broj uzoraka; $120 \mu\text{l}$ = volumen unutarnje kontrole–nosača RNA (CARRIER)–pufera AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = potreban ostatni volumen po epruveti). Na primjer, za 12 uzoraka ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Nemojte napuniti epruvetu s više od 1.9 ml (npr., najviše za 12 uzoraka po epruveti). Ako će biti obrađeno više od 12 uzoraka, upotrijebite dodatne epruvete, osiguravajući dodavanje ostatnog volumena po svakoj epruveti.

† Koristite ovu jednadžbu za izračun potrebnog volumena smjese unutarnje kontrole –nosača RNA (CARRIER)–pufera AVE (AVE) (n = broj uzoraka; $120 \mu\text{l}$ = volumen unutarnje kontrole–nosača RNA (CARRIER)–pufera AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = potreban ostatni volumen po epruveti). Na primjer, za 96 uzoraka ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

Za potrebne upute pogledajte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Uporaba FIX laboratorijskog pribora

Korištenje detekcije razine tekućine (liquid-level detection, LLD) za prijenos uzoraka dozvoljava uporabu primarnih i sekundarnih epruveta. Međutim, to zahtjeva određene mrtve volumene u odgovarajućim epruvetama. Za umanjene mrtvih volumena, sekundarne se epruvete mogu koristiti bez detekcije razine tekućine. Dostupan je specifični FIX laboratorijski pribor (npr., SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) koji se također može odabrati na zaslonu osjetljivom na dodir QIAasympyphony SP. Ta vrsta epruveta/stalaka zaobilazi restrikcije aspiracije. Uzorak se aspirira na definiranoj visini epruvete koja je definirana volumenom uzorka kojeg treba prenijeti. Stoga je

neophodno da se koristi volumen naveden u Listama laboratorijskog pribora. Liste laboratorijskog pribora su dostupne za preuzimanje na www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Epruvete za uzorke koje se mogu koristiti sa ili bez detekcije razine tekućine i potrebni volumeni uzorka navedeni su na www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Ne koristite volumene veće ili manje od potrebnog volumena jer može doći do pogrešaka za vrijeme pripreme uzorka.

Moguće je obrađivati epruvete uz upotrebu ili bez detekcije razine tekućine unutar iste serije/ispitivanja.

Priprema materijala uzorka

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.

Mokraća

Mokraća se može obrađivati bez daljnje pripreme. Prebacite uzorak u epruvetu od 2 ml Sarstedt (kat. br. 72.693 ili 72.694) i postavite uzorak u nosač epruveta. U drugom se slučaju mogu koristiti primarne epruvete. Potrebni najmanji početni volumen varira ovisno o upotrijebljenoj primarnoj epruveti. Kompatibilni formati primarnih i sekundarnih epruveta, uključujući najmanji početni volumen potreban za svaki protokol, navedeni su na www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. 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 µl pufera ATL (ATL) (kat. br. 939016). . Prebacite uzorak u epruvetu od 2 ml Sarstedt (kat. br. 72.693 ili 72.694). Postavite uzorak u nosač epruveta i obradite uzorak koristeći Complex400_V4_DSP protokol i potrebni FIX laboratorijski pribor.

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 Complex400_V4_DSP protokola.

- 1. Istaložite bakterije centrifugiranjem na 5000 x g kroz 10 minuta.**
- 2. Otopite talog bakterija u 500 µl odgovarajuće otopine enzima (20 mg/ml lizozima ili 200 µg/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 (± 2 minute).**
- 4. Kratko centrifugirajte epruvetu zbog uklanjanja kapljica iz unutrašnjosti poklopca.**
- 5. Prebacite uzorak u epruvetu od 2 ml Sarstedt (kat. br. 72.693 ili 72.694), postavite uzorak u nosač epruveta, i nastavite s Complex400_V4_DSP protokolom uz potrebni FIX laboratorijski pribor.**

Viskozni ili mukozni uzorci

Neki uzorci (npr., sputum, respiratorni aspirati) mogu biti viskozni i zahtijevati 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% (w/v) 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. **Prebacite najmanje 500 µl uzorka u epruvetu od 2 ml Sarstedt (kat. br. 72.693 ili 72.694). Obradite uzorak koristeći Complex400_V4_DSP protokol.**

Osušene tjelesne tekućine i sekrecijski obrisci

1. **Uronite osušeni štapić s obriskom u 750 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. **Prebacite najmanje 500 µl uzorka u epruvetu od 2 ml Sarstedt (kat. br. 72.693 ili 72.694). Obradite uzorak koristeći Complex400_V4_DSP protokol.**

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 900 µl materijala uzorka.

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

† Ovo nije potpuni popis dobavljača.

Respiratorni ili urogenitalni obrisci čuvani u transportnom mediju

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).

Prebacite uzorak u epruvetu od 2 ml Sarstedt (kat. br. 72.693 ili 72.694) i postavite uzorak u nosač epruveta. U drugom se slučaju mogu koristiti primarne epruvete. Potrebni najmanji početni volumen varira ovisno o upotrijebljenoj primarnoj epruveti. Kompatibilni formati primarnih i sekundarnih epruveta, uključujući najmanji početni volumen potreban za svaki protokol, navedeni su na www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

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

