

Φύλλο πρωτοκόλλου QIAAsymphony SP

Πρωτόκολλο Complex200_V6_DSP

Γενικές πληροφορίες

Για διαγνωστική χρήση in vitro.

Κιτ	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Υλικό δείγματος	Δείγματα αναπνευστικού και ουρογεννητικού συστήματος
Ονομασία πρωτοκόλλου	Complex200_V6_DSP
Προκαθορισμένο σετ προτύπου ελέγχου μεθόδου	ACS_Complex200_V6_DSP_default_IC
Με δυνατότητα επεξεργασίας	Όγκος παράγωγου έκλουσης: 60 μl, 85 μl, 110 μl
Απαιτούμενη λογισμικού έκδοση	Έκδοση 4.0

Μαρτίου 2012



Sample & Assay Technologies

Συρτάρι «Sample» (Δείγμα)

Τύπος δείγματος	Δείγματα αναπνευστικού (βρογχοπνευμονική έκπλυση (BAL), ξηροί σπειροει επιχρισμάτων, μέσα μεταφοράς, αναρροφήσεις, πτύελα) και ουρογεννητικού συστήματος (ούρα, μέσα μεταφοράς)
Όγκος δείγματος:	Εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σωληναρίου δείγματος: για περισσότερες πληροφορίες βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Αρχικά δείγματος	σωληνάκια Βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks , για περισσότερες πληροφορίες
Δευτερεύοντα δείγματος	σωληνάκια Βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks , για περισσότερες πληροφορίες
Ένθετα	Εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σωληναρίου δείγματος: για περισσότερες πληροφορίες βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Άλλο	Απαιτείται μείγμα φορέα RNA ρυθμιστικού διαλύματος AVE. Η χρήση προτύπου εσωτερικού ελέγχου είναι προαιρετική

Συρτάρι «Reagents and Consumables» (Αντιδραστήρια και αναλώσιμα)

Θέση A1 και/ή A2	Φύσιγγα αντιδραστηρίου (RC)
Θέση B1	Ρυθμιστικό διάλυμα ATL (ATL)
Στήριγμα θηκών ρυγχών 1–17	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl
Στήριγμα θηκών ρυγχών 1–17	Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 μl
Στήριγμα κουτιών μονάδας 1–4	Κουτιά μονάδας που περιέχουν φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων
Στήριγμα κουτιών μονάδας 1–4	Κουτιά μονάδων που περιέχουν περιβλήματα 8 ράβδων

Συρτάρι «Waste» (Απόβλητα)

Στήριγμα κουτιών μονάδας 1–4	Άδεια κουτιά μονάδας
Στήριγμα σακούλας αποβλήτων	Σακούλα αποβλήτων
Στήριγμα φιάλης υγρών αποβλήτων	Φιάλη υγρών αποβλήτων

Συρτάρι «Eluate» (Παράγωγο έκλουσης)

Βάση στήριξης έκλουσης (συνιστούμε τη χρήση της υποδοχής 1, θέση ψύξης)	Βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks , για περισσότερες πληροφορίες
---	---

Απαιτούμενα πλαστικά υλικά

	Μία παρτίδα, 24 δείγματα*	Δύο παρτίδες, 48 δείγματα*	Τρεις παρτίδες, 72 δείγματα*	Τέσσερις παρτίδες, 96 δείγματα*
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 200 μl ^{†‡}	34	60	86	112
Αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου, 1500 μl ^{†‡}	123	205	295	385
Φύσιγγες προετοιμασίας δειγμάτων [§]	18	36	54	72
Περιβλήματα 8 ράβδων	3	6	9	12

* Η χρήση περισσότερων του ενός προτύπου εσωτερικού ελέγχου ανά παρτίδα και η εκτέλεση περισσότερων από μίας σαρώσεων υλικού απαιτεί περισσότερα αναλώσιμα ρύγχη φίλτρου. Η χρήση λιγότερων από 24 δείγματα ανά παρτίδα μειώνει τον αριθμό των αναλώσιμων ρυγχών φίλτρου που απαιτούνται ανά εκτέλεση.

[†] Κάθε βάση στήριξης ρυγχών περιέχει 32 ρύγχη φίλτρου.

[‡] Ο αριθμός των απαιτούμενων ρυγχών φίλτρου περιλαμβάνει ρύγχη φίλτρου για 1 σάρωση υλικού ανά φύσιγγα αντιδραστηρίου.

[§] Κάθε κουτί μονάδας περιέχει 28 φύσιγγες προετοιμασίας δείγματος.

[¶] Κάθε κουτί μονάδας περιέχει δώδεκα περιβλήματα 8 ράβδων.

Σημείωση: Ο αριθμός των εκάστοτε ρυγχών φίλτρου ενδέχεται να διαφέρει από τους αριθμούς που αναγράφονται στην οθόνη αφής, ανάλογα με τις ρυθμίσεις, π.χ. τον αριθμό των προτύπων εσωτερικού ελέγχου που χρησιμοποιούνται ανά παρτίδα.

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης (μl)*	Αρχικός όγκος έκλουσης (μl)†
60	90
85	115
110	140

* Ο όγκος έκλουσης που επιλέχθηκε στην οθόνη αφής. Αυτός είναι ο ελάχιστος προσβάσιμος όγκος του παραγώγου έκλουσης στο τελικό σωληνάριο έκλουσης.

† Ο αρχικός όγκος του διαλύματος έκλουσης που απαιτείται για τη διασφάλιση του πραγματικού όγκου του παραγώγου έκλουσης είναι ο ίδιος με τον επιλεγμένο όγκο.

Προετοιμασία μείγματος προτύπου εσωτερικού ελέγχου-φορέα RNA (CARRIER)-ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE)

Επιλεγμένος όγκος έκλουσης (μl)	Αρχικός όγκος φορέα RNA (CARRIER) (μl)	Όγκος προτύπου εσωτερικού ελέγχου (μl)*	Όγκος ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE) (μl)	Τελικός όγκος ανά δείγμα (μl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Ο υπολογισμός της ποσότητας προτύπου εσωτερικού ελέγχου βασίζεται στους αρχικούς όγκους έκλουσης. Ο πρόσθετος κενός όγκος εξαρτάται από τον τύπο του χρησιμοποιούμενου σωληναρίου δείγματος. Για περισσότερες πληροφορίες βλ. www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Σημείωση: Οι τιμές του πίνακα αναφέρονται σε προετοιμασία μείγματος προτύπου εσωτερικού ελέγχου-φορέα RNA (CARRIER) για καθοδικό προσδιορισμό που απαιτεί 0,1 μl προτύπου εσωτερικού ελέγχου/μl παραγώγου έκλουσης.

Σωληνάρια που περιέχουν μείγμα προτύπου εσωτερικού ελέγχου-φορέα RNA (CARRIER)-ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE) τοποθετούνται σε ένα φορέα σωληναρίων. Ο φορέας σωληναρίων που περιέχει μείγμα(τα) προτύπου εσωτερικού ελέγχου-φορέα RNA (CARRIER)-ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE) πρέπει να τοποθετηθεί στην υποδοχή A στο συρτάρι δείγματος.

Ανάλογα με τον αριθμό των δειγμάτων που αναλύονται, απαιτείται η χρήση σωληναρίων 2 ml (Sarstedt, αριθ. κατ. 72.693 ή 72.694) ή σωληνάρια 14 ml 17 x 100 mm πολυστυρενίου, στρογγυλού πυθμένα (Becton Dickinson, αριθ. κατ. 352051) για την αραίωση του προτύπου εσωτερικού ελέγχου, όπως περιγράφεται στον πίνακα στη σελίδα 5. Ο όγκος μπορεί να χωριστεί σε 2 ή περισσότερα σωληνάρια..

Υπολογισμός του όγκου μείγματος του προτύπου εσωτερικού ελέγχου

Τύπος σωληναρίου	Όνομα στην οθόνη αφής της QIASymphony	Υπολογισμός του όγκου μείγματος προτύπου εσωτερικού ελέγχου-φορέα RNA (CARRIER)-ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE) ανά σωληνάριο
Μικροσωληνάριο 2 ml με πώμα: μικροσωληνάριο 2 ml, PP, SKIRTED, (Sarstedt, αριθ. κατ. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 120 μl) + 360 μl*
Μικροσωληνάριο 2 ml με πώμα: μικροσωληνάριο 2 ml, PP, NON-SKIRTED, (Sarstedt, αριθ. κατ. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 120 μl) + 360 μl*
Σωληνάριο 14 ml, 17 x 100 mm πολυστυρενίου, στρογγυλού πυθμένα (Becton Dickinson, αριθ. κατ. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	(n x 120 μl) + 600 μl†

* Χρησιμοποιήστε αυτήν την εξίσωση για τον υπολογισμό του απαιτούμενου όγκου του μείγματος εσωτερικού μάρτυρα (n = αριθμός δειγμάτων, 120 μl = όγκος μείγματος προτύπου εσωτερικού ελέγχου-φορέα RNA(CARRIER)-ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE), 360 μl = κενός όγκος που απαιτείται ανά σωληνάριο). Για παράδειγμα, για 12 δείγματα (n = 12): (12 x 120 μl) + 360 μl = 1800 μl. Μη γεμίζετε το σωληνάριο με περισσότερο από 1,9 ml (δηλ. μέχρι και 12 δείγματα ανά σωληνάριο). Εάν πρόκειται να υποβληθούν σε επεξεργασία περισσότερα από 12 δείγματα, χρησιμοποιήστε πρόσθετα σωληνάρια, διασφαλίζοντας πως ανά σωληνάριο προστίθεται ο κενός όγκος.

† Χρησιμοποιήστε αυτήν την εξίσωση για τον υπολογισμό του απαιτούμενου όγκου του μείγματος προτύπου εσωτερικού ελέγχου (n=αριθμός δειγμάτων, 120 μl=όγκος μείγματος προτύπου εσωτερικού ελέγχου-φορέα RNA(CARRIER)-ρυθμιστικού διαλύματος AVE (AVE), 600 μl = κενός όγκος που απαιτείται ανά σωληνάριο). Για παράδειγμα, για 96 δείγματα = 96): (96 x 120 μl) + 600 μl = 12120 μl.

Βλέπε www.qiagen.com/goto/dsphandbooks για απαιτούμενες προσθήκες.

Χρήση ειδών εργαστηρίου FIX

Η χρήση του εντοπισμού της στάθμης υγρού (LLD)για τη μεταφορά δειγμάτων επιτρέπει τη χρήση αρχικών και δευτερευόντων σωληναρίων. Ωστόσο, αυτό απαιτεί σίγουρα νεκρούς όγκους στα αντίστοιχα σωληνάρια. Για την ελαχιστοποίηση των νεκρών όγκων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν

δευτερεύοντα σωληνάρια χωρίς εντοπισμό στάθμης υγρού. Ειδικά είδη εργαστηρίου FIX είναι διαθέσιμα (e.g. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) τα οποία μπορούν επίσης να επιλεγθούν στην οθόνη αφής του QIASymphony SP. Ο τύπος αυτός σωληναρίου/βάσης στήριξης επιβάλλει περιορισμούς αναρρόφησης. Το δείγμα αναρροφάται από συγκεκριμένο ύψος του σωληναρίου το οποίο ύψος καθορίζεται από τον όγκο του δείγματος που πρέπει να μεταφερθεί. Για το λόγο αυτό είναι βασικό να βεβαιωθείτε ότι εισάγετε τον όγκο που αναφέρεται στον κατάλογο των ειδών εργαστηρίου. Κατάλογοι ειδών εργαστηρίου είναι διαθέσιμοι για καταφόρτωση στην ιστοσελίδα www.qiagen.com/dsphandbooks.

Προετοιμασία του υλικού δείγματος

Όταν εργάζεστε με χημικά θα πρέπει πάντοτε να φοράτε προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας υλικού (MSDS), τα οποία και είναι διαθέσιμα από τον προμηθευτή του προϊόντος.

Ούρα

Τα ούρα μπορούν να υποβληθούν σε διεργασία χωρίς περαιτέρω προκαταρκτική επεξεργασία. Μεταφέρετε το δείγμα σε σωληνάριο 2 ml της εταιρείας Sarstedt (αριθ. κατ. 72.693 ή 72.694) και τοποθετήστε το δείγμα στο φορέα σωληναρίων. Εναλλακτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν αρχικά σωληνάρια. Ο απαιτούμενος ελάχιστος αρχικός όγκος ενδέχεται να διαφέρει, ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο αρχικό σωληνάριο. Στη διεύθυνση www.qiagen.com/goto/dsphandbooks θα βρείτε τους συμβατούς τύπους πρώτων και δευτερόντων σωληναρίων, συμπεριλαμβανομένων των ελάχιστων αρχικών όγκων που απαιτούνται για κάθε πρωτόκολλο. Το σύστημα έχει βελτιστοποιηθεί για καθαρά δείγματα ούρων που δεν περιέχουν συντηρητικά. Για την αύξηση της ευαισθησίας έναντι βακτηριακών παθογόνων, μπορείτε να φυγοκεντρίσετε τα δείγματα. Μετά την απόρριψη του υπερκείμενου υγρού, το ίζημα μπορεί να ανακατανεμηθεί σε τουλάχιστον 300 μl ρυθμιστικού διαλύματος ATL (ATL) (αριθ. κατ. 939016). Μεταφέρετε 220 μl του δείγματος σε σωληνάριο 2 ml της εταιρείας Sarstedt (αριθ. κατ. 72.693 ή 72.694). Τοποθετήστε το δείγμα σε φορέα σωληναρίων και υποβάλλετέ το σε επεξεργασία σύμφωνα με το πρωτόκολλο Complex200_V6_DSP και τα απαιτούμενα είδη εργαστηρίου FIX.

Απομόνωση γονιδιωματικού DNA από θετικά κατά Gram βακτηρίδια

Ο καθαρισμός DNA μπορεί να βελτιωθεί για ορισμένα θετικά κατά Gram βακτηρίδια με ενζυματική προκαταρκτική επεξεργασία, πριν από τη μεταφορά του δείγματος στο QIASymphony SP και την εκκίνηση του πρωτοκόλλου Complex200_V6_DSP.

1. **Καθίζηση βακτηριδίων με φυγοκέντρηση στις 5000 x g για 10 λεπτά.**
2. **Ανακατανομή του βακτηριακού ιζήματος σε 300 μl του ενδεδειγμένου ενζυματικού διαλύματος (20 mg/ml λυσοζύμης ή 200 μg/ml λυσοσταφίνης σε 20 mM Tris-HCl, pH 8.0 - 2mM EDTA - 1,2% Triton X-100).**
3. **Επώαση στους 37°C για τουλάχιστον 30 λεπτά (± 2 λεπτά).**

4. Σύντομη φυγοκέντριση του σωληναρίου για την απομάκρυνση σταγονιδίων από το εσωτερικό του καλύμματος.
5. Μεταφορά του δείγματος σε σωληνάριο 2 ml της εταιρείας Sarstedt (αριθ. κατ. 72.693 ή 72.694), τοποθέτηση του δείγματος στο φορέα σωληναρίων και συνέχιση με το πρωτόκολλο Complex200_V6_DSP χρησιμοποιώντας τα απαιτούμενα είδη εργαστηρίου FIX.

Παχύρρευστα ή βλεννώδη δείγματα

Ορισμένα δείγματα (π.χ. πτύελα, αναρροφήσεις αναπνευστικών οδών) ενδέχεται να είναι παχύρρευστα και χρήζουν υγροποίησης ώστε να μπορούν να διανεμηθούν με πιπέτα. Τα δείγματα χαμηλού ιξώδους δεν απαιτούν πρόσθετη προετοιμασία. Τα δείγματα μετρίου έως υψηλού ιξώδους θα πρέπει να προετοιμάζονται ως εξής.

1. **Αραίωση του δείγματος σε αναλογία 1:1 με Sputasol*[†] (Oxoid, αριθ. κατ. SR0233) ή 0,3% (β./ό.) DTT.**
Σημείωση: Το διάλυμα DTT 0,3% (β./ό.) μπορεί να ετοιμαστεί εκ των προτέρων και να φυλαχθεί σε επιμερισμένες ποσότητες στους -20°C. Απορρίψτε τις αποψυγμένες επιμερισμένες ποσότητες μετά τη χρήση.
2. **Επώαση στους 37°C έως ότου το ιξώδες του δείγματος ενδείκνυται για διανομή με πιπέτα.**
3. **Μεταφορά τουλάχιστον 300 μl του δείγματος σε σωληνάριο 2 ml της εταιρείας Sarstedt (αριθ. κατ. 72.693 ή 72.694). Επεξεργασία του δείγματος με χρήση του πρωτοκόλλου Complex200_V6_DSP.**

Ξηροί στείλεοί σωματικών υγρών και εκκρίσεων

1. **Βύθιση του άκρου του ξηρού στείλεου σε 550 μl ρυθμιστικού διαλύματος ATL (ATL) (αριθ. κατ. 939016), και επώαση στους 56°C για 15 λεπτά (± 1 λεπτό), με συνεχή ανάμιξη. Εάν η ανάμιξη δεν είναι εφικτή, αναδεύστε σε αναδευτήρα vortex πριν και μετά την επώαση για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα.**
2. **Αφαιρέστε το στείλεό και πιέστε τον στο εσωτερικό τοίχωμα του σωληναρίου για την έκθλιψη όλου του υγρού.**
3. **Μεταφορά τουλάχιστον 300 μl του δείγματος σε σωληνάριο 2 ml της εταιρείας Sarstedt (αριθ. κατ. 72.693 ή 72.694). Επεξεργασία του δείγματος με χρήση του πρωτοκόλλου Complex200_V6_DSP.**

Σημείωση: Αυτό το πρωτόκολλο έχει βελτιστοποιηθεί για στείλεούς με βαμβάκι ή πολυαιθυλένιο. Εάν χρησιμοποιούνται διαφορετικοί στείλεοί, ίσως χρειαστεί να προσαρμόσετε τον όγκο του ρυθμιστικού διαλύματος ATL (ATL) για να διασφαλίσετε πως υπάρχουν τουλάχιστον 300 μl διαθέσιμα ως υλικό δείγματος.

* Sputasol (Oxoid, αριθ. κατ. SR0233, www.oxoid.com) ή διθειοτρεϊτόλη (DTT).

[†] Δεν πρόκειται για πλήρη λίστα προμηθευτών.

Επιχρίσματα αναπνευστικού ή ουρογεννητικού συστήματος

Τα μέσα φύλαξης για επιχρίσματα του αναπνευστικού ή ουρογεννητικού συστήματος μπορούν να χρησιμοποιηθούν χωρίς προκαταρκτική επεξεργασία. Εάν δεν έχει αφαιρεθεί ο σπειλεός, πιέστε τον στο τοίχωμα του σωληναρίου για την έκθλιψη του υγρού. Τυχόν περίσσεια βλέννης στο δείγμα πρέπει να τώρα να απομακρυνθεί, συλλέγοντάς τη στο σπειλεό. Τυχόν υπολλειμματικό υγρό από τη βλέννη και το σπειλείο θα πρέπει να εκθλίβεται με πίεση του σπειλεού στο τοίχωμα του σωληναρίου. Στο τέλος ο σπειλεός και η βλέννη αφαιρούνται και απορρίπτονται. Εάν πρόκειται για παχύρρευστα δείγματα, εκτελέστε βήμα υγροποίησης (βλ. «Παχύρρευστα ή βλεννώδη δείγματα» παραπάνω) προτού μεταφέρετε το δείγμα στο QIASymphony SP. Εάν δεν υπάρχει επαρκές αρχικό υλικό, μεταφέρετε με πιπέτα ρυθμιστικό διάλυμα ATL (ATL) στο μέσο μεταφοράς για την προσαρμογή του ελάχιστου αρχικού όγκου και αναδεύστε το δείγμα σε αναδευτήρα vortex για 15–30 δευτερόλεπτα. στο σωληνάριο (εάν το μέσο μεταφοράς περιέχει το σπειλεό, εκτελέστε αυτό το βήμα πριν από την αφαίρεση του σπειλεού). Μεταφέρετε το δείγμα σε σωληνάριο 2 ml της εταιρείας Sarstedt (αριθ. κατ. 72.693 ή 72.694) και τοποθετήστε το δείγμα στο φορέα σωληναρίων. Εναλλακτικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν αρχικά σωληνάρια. Ο απαιτούμενος ελάχιστος αρχικός όγκος ενδέχεται να διαφέρει, ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο αρχικό σωληνάριο. Στη διεύθυνση www.qiagen.com/goto/dsphandbooks θα βρείτε τα συμβατά αρχικά και δευτερεύοντα σωληνάρια, συμπεριλαμβανομένων των ελάχιστων αρχικών όγκων που απαιτούνται για κάθε πρωτόκολλο.

Για τις τρέχουσες πληροφορίες άδειας και αποποιήσεις σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, ανατρέξτε στο σχετικό εγχειρίδιο ή οδηγίες χρήσης του kit QIAGEN. Εγχειρίδια της QIAGEN διατίθενται κατόπιν παραγγελίας από το Τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό αντιπρόσωπο της QIAGEN. Επιλεγμένα εγχειρίδια είναι διαθέσιμα για καταφόρτωση στη διεύθυνση www.qiagen.com/literature. Δελτία δεδομένων ασφάλειας υλικού (MSDS) για κάθε προϊόν της QIAGEN είναι διαθέσιμα για καταφόρτωση στη διεύθυνση www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, QIASymphony® (Όμιλος QIAGEN). Οι καταχωρημένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λ.π. που χρησιμοποιούνται σε αυτό το έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται ως μη προστατευμένα από το νόμο, ακόμη και αν δεν επισημαίνονται ειδικά ως τέτοια.

© 2012 QIAGEN, με τη διατήρηση κάθε δικαιώματος.

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