

2017. december

# QIASymphony<sup>®</sup> SP protokoll lap

## Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokoll

Jelen dokumentum a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit 1. verziójához készült Complex400\_OBL\_V4\_DSP  
QIASymphony SP protokoll lap 2. átdolgozása.

## Általános információk

A QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit in vitro diagnosztikai felhasználásra készült.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
<b>Minta típusa</b>	Légzőszervi és húgy-ivarszervi minták
<b>Protokoll neve</b>	Complex400_OBL_V4_DSP
<b>Alapértelmezett tesztkontroll-készlet</b>	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
<b>Szerkeszthető</b>	Eluátum térfogata: 60 µl, 85 µl, 110 µl
<b>Szükséges szoftververzió</b>	4.0-s vagy későbbi verzió

## „Sample” (Minta) fiók

<b>A minta típusa</b>	A légzőszervi minták (BAL, szárított pálcá, transzport táptalaj, aspirátum, köpet) és húgy-ivarszervi minták (vizelet, transzport táptalaj)
<b>Mintatérfogat</b>	Az alkalmazott mintacső típusától függ; további tájékoztatásért lásd <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Elsődleges mintacsövek</b>	További tájékoztatásért lásd <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Másodlagos mintacsövek</b>	További tájékoztatásért lásd <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Inzertek</b>	Az alkalmazott mintacső típusától függ; további tájékoztatásért lásd <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Egyéb</b>	Hordozó RNS-AVE puffer keverék szükséges; a belső kontroll alkalmazása opcionális

## „Reagents and Consumables” (Reagensok és fogyóeszközök) fiók

<b>A1 és/vagy A2 pozíció</b>	Reagenskazetta (Reagent cartridge, RC)
<b>B1 pozíció</b>	n.a.
<b>Hegyalvány-tartó, 1–17.</b>	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl
<b>Hegyalvány-tartó, 1–17.</b>	Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 1500 µl
<b>1–4. számú egységdoboz-tartó</b>	Minta-előkészítő kazettákat tartalmazó egységdobozok
<b>1–4. számú egységdoboz-tartó</b>	8-as rúdburkolatokat tartalmazó egységdobozok

n.a. = nem alkalmazható.

## „Waste” (Hulladék) fiók

<b>1–4. számú egységdoboz-tartó</b>	Üres egységdobozok
<b>A hulladékgyűjtő zsák tartója</b>	Hulladékgyűjtő zsák
<b>A folyékonyhulladék-palack tartója</b>	Folyékonyhulladék-palack

## „Eluate” (Eluátum) fiók

Elúciós állvány (az 1. nyílás, hűtő pozíció alkalmazását javasoljuk)

További tájékoztatásért lásd  
[www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks)

## Szükséges műanyag eszközök

	Egy köteg, 24 minta*	Két köteg, 48 minta*	Három köteg, 72 minta*	Négy köteg, 96 minta*
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 200 µl†	96	96	128	128
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 1500 µl†	128	192	224	288
Minta-előkészítő kazetták§	18	36	54	72
8-as rúdburkolatok¶	3	6	9	12

\* Egynél több leltárellenőrzés elvégzéséhez további egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyekre van szükség. Ha kötegenként 24-nél kevesebb mintát használ, csökken a futtatásonként szükséges egyszer használatos hegyek száma.

† Egy hegyállványon 32 darab, szűrővel rendelkező hegy van.

‡ Szűrővel ellátott hegyek száma reagenskazettánként, az 1 készletellenőrzéshez szükséges, szűrővel ellátott hegyeket is beleszámítva.

§ Egy egységdobozban 28 minta-előkészítő kazetta van.

¶ Egy egységdoboz tizenkét 8-as rúdburkolatot tartalmaz.

**Megjegyzés:** A beállítások, például a kötegenként alkalmazott belső kontrollok számának függvényében a szűrővel rendelkező hegyek száma eltérhet az érintőképernyőn megjelenített számoktól.

## Kiválasztott elúciós térfogat

Kiválasztott elúciós térfogat (µl)*	Kezdeti elúciós térfogat (µl)†
60	90
85	115
110	140

\* Az érintőképernyőn kiválasztott elúciós térfogat. Ez a minimálisan hozzáférhető eluátumtérfogat a végleges elúciós csőben.

† Az a kezdeti elúciós oldat térfogat, amely ahhoz szükséges, hogy az eluátum tényleges térfogata megegyezzen a kiválasztott térfogattal.

## A belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – AVE puffer (AVE) keverék elkészítése

Kiválasztott elúciós térfogat (µl)	Hordozó RNS (CARRIER) törzsoldat térfogata (µl)	Belső kontroll térfogata (µl)*	AVE puffer (AVE) térfogata (µl)	Végleges térfogat mintánként (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

\* A belső kontroll mennyiségének kiszámítása a kezdeti elúciós térfogat alapján történik. A további holtterefogat a használt mintacső típusától függ; további tájékoztatásért lásd [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks).

**Megjegyzés:** A táblázatban feltüntetett értékek a mikroliterenként 0,1 µl belső kontrollt tartalmazó eluátumot igénylő downstream teszthez használt belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) keverék elkészítéséhez használhatók.

## A készüléken kívüli lízis

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkért olvassa el az egyes termékek gyártójának anyagbiztonsági adatlapjait (material safety data sheet, MSDS).

A QIASymphony komplex protokollok 4 lépésből állnak: lízis, kötés, mosás, elúció. Egyes mintáknál hasznos a lízis manuális elvégzése, ilyen például a kórokozók inaktiválása biológiai biztonsági fülkében. A Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokoll a manuális lízis elvégzését hasonló módon teszi lehetővé, mint a Complex400\_V4\_DSP protokoll. Az előkezelt mintákat a rendszer átvizsi a QIASymphony SP készülékre, és a Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokollnak megfelelően dolgozza fel őket.

**Megjegyzés:** A Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokollhoz ACL puffer és ATL puffer (ATL) szükséges. Az ACL puffer (katalógusszám: 939017) és ATL puffer (ATL) (katalógusszám: 939016) nem képezi a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit részét, és ezeket külön kell megrendelni.

## Manuális lízis

1. Pipetázzon 40 µl, 165 µl ATL puffert (ATL), 120 µl hordozó RNS – belsőkontroll-keveréket, valamint 315 µl ACL puffert egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694).

**Megjegyzés:** Ha manuális lízis alkalmazásával egynél több mintát dolgoz fel, elkészíthető ennek az oldatnak a törzsoldata. Egyszerűen szorozza meg az egy mintához szükséges térfogatot az összes feldolgozandó minta számával, és adjon hozzá még 2 mintányi térfogatot. A keveréshez fordítsa meg többször a csövet, minden mintához vigyen át 640 µl-t egy 2 ml-es Sarstedt csőbe, és minden minta esetében folytassa a 4. lépéssel.

2. Zárja le a fedelet, és ötszöri fel-le forgatással keverje össze.
3. A fedél belsején lévő cseppek eltávolításához rövid ideig centrifugálja a csövet.
4. Adjon 400 µl mintát a csőhöz, zárja le a fedelet, és vortexelje impulzus módban 10 másodpercig.
5. Inkubálja a csöveket 68 °C-on 15 percig (±1 perc).
6. A fedél belsején lévő cseppek eltávolításához rövid ideig centrifugálja a csövet.
7. Helyezze a megfelelő mintacsövekhez tartozó inzerteket egy csőtartóba, és töltsse be a mintacsöveket (fedél nélkül).

## A mintaanyag előkészítése

### Vizelet

A vizelet további előkezelés nélkül feldolgozható. A rendszer tartósítószerrel nem tartalmazó, tiszta vizeletmintákra van optimalizálva. A bakteriális kórokozók iránti érzékenység fokozása érdekében a minták centrifugálhatók. A felülülő eltávolítását követően a pellet legalább 400 µl ATL pufferben (ATL) (katalógusszám: 939016) reszuszpendálható. A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 400 µl előkezelt mintát.

### Genomikus DNS izolálása Gram-pozitív baktériumokból

A DNS-tisztítás egyes Gram-pozitív baktériumok esetében a minta a QIASymphony SP készülékbe történő átvitele és a Complex400\_OBL\_V4\_DSP protokoll elindítása előtt enzimatiszálásal javítható.

1. Tíz percen keresztül 5000 x g-vel végzett centrifugálással szemcsésítse a baktériumokat.
2. Oldja fel a bakteriális pelletet 400 µl megfelelő enzimoldatban (20 mg/ml lizoszóma vagy 200 µg/ml lizosztatfin; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100).

3. Inkubálja 37 °C-on legalább 30 percig ( $\pm 2$  perc).
4. A fedél belsején lévő cseppek eltávolításához rövid ideig centrifugálja a csövet.
5. A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 400  $\mu$ l előkezelt mintát.

### Viszkózus vagy nyákos minták

Egyes minták (pl. köpet, légzőszervi aspirátum) viszkózusak lehetnek, és cseppfolyósítást igényelhetnek a pipettázás elősegítése érdekében. A kis viszkozitású minták nem igényelnek további előkészítést. A közepes, illetve nagy viszkozitású mintákat a következőképpen kell előkészíteni:

1. Hígítsa a mintát 1:1 arányban Sputasol\*† (Oxoid, katalógusszám: SR0233) vagy 0,3%-os (w/v) DTT alkalmazásával.

**Megjegyzés:** A 0,3%-os DTT oldat elkészíthető előre, és megfelelő alikvotokban  $-20$  °C-on tárolható. A kiolvasztott alikvotot használat után ki kell dobni.

2. Inkubálja 37 °C-on mindaddig, amíg a minta viszkozitása pipettázásra alkalmassá válik.
3. A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 400  $\mu$ l előkezelt mintát.

### Szárított testnedv- és váladékkennetek

1. Merítse a pálcá megszáritott végét 650  $\mu$ l ATL pufferbe (ATL) (katalógusszám: 939016), és folyamatos keverés mellett inkubálja 56 °C-on 15 percig ( $\pm 1$  perc). Ha a keverés nem lehetséges, vortexelje a mintát az inkubálás előtt és után legalább 10 másodpercig.
2. Vegye ki a pálcát, és a cső belsejéhez nyomva préselje ki belőle az összes folyadékot.
3. A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 400  $\mu$ l előkezelt mintát.

**Megjegyzés:** A protokoll pamut és polietilén pálcákra lett optimalizálva. Más pálcák alkalmazása esetén szükség lehet az ATL puffer (ATL) térfogatának módosítására, hogy mintaanyagként legalább 400  $\mu$ l álljon rendelkezésre.

\* Sputasol (Oxoid, katalógusszám: SR0233, [www.oxid.com](http://www.oxid.com)) vagy ditiotreitolt (DTT).

† A gyártók listája nem teljes.

## Légzőszervi és húgy-ivarszervi kenetek

A légzőszervi és húgy-ivarszervi kenetek tárolására szolgáló táptalaj előkezelés nélkül használható. Ha még nem távolította el a pálcát, nyomja a pálcát a cső oldalához a folyadék kipréseléséhez. A pálcával összegyűjtve a mintában lévő összes többletnyágot el kell távolítani. A nyákból és a pálcából magmaradó összes folyadékot ki kell préselni a pálcát a cső oldalához nyomva. Végül a pálcát és a nyákot el kell távolítani és ki kell dobni. Viszkózus minta esetén végezzen el egy cseppfolyósító lépést (lásd a fenti „Viszkózus vagy nyákos minták” című szakaszt), mielőtt átvinné a mintát a QIASymphony SP készülékre. Ha nincs elegendő kiinduló anyag, pipettázzon ATL puffert (ATL) a transzport táptalajba a szükséges minimális kiindulási térfogat beállításához, és vortexelje a mintát 15–30 másodpercig a csőben (amennyiben a transzport táptalajban benne van a pálca, akkor ezt a lépést a pálca eltávolítása előtt végezze el). A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 400 µl mintát.

## Átdolgozási előzmények

Dokumentum átdolgozási előzményei	
R2 12/2017	A QIASymphony 5.0-s szoftververzió frissítése

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN® kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói útmutatói a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) webhelyen érhetők el, vagy a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN csoport). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelemen kívül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.  
12/2017 HB-0301-S29-002 © 2017 QIAGEN, minden jog fenntartva.

---

Rendelés: [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Műszaki támogatás: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Webhely: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)