

2017. december

QIASymphony[®] SP protokoll lap

Complex800_OBL_V4_DSP protokoll

Jelen dokumentum a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit 1. verziójához készült Complex800_OBL_V4_DSP
QIASymphony SP protokoll lap 2. átdolgozása.

Általános információk

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

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Minta típusa	Légzőszervi és húgy-ivarszervi minták
Protokoll neve	Complex800_OBL_V4_DSP
Alapértelmezett tesztkontroll-készlet	ACS_Complex800_OBL_V4_DSP
Szerkeszthető	Elúciós térfogat: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Szükséges szoftververzió	4.0-s vagy későbbi verzió

„Sample” (Minta) fiók

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

„Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiók

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

n.a. = nem alkalmazható.

”

Waste” (Hulladék) fiók

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

„Eluate” (Eluátum) fiók

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

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 Complex800_OBL_V4_DSP protokoll a manuális lízis elvégzését hasonló módon teszi lehetővé, mint a Complex800_V6_DSP protokoll. Az előkezelt mintákat a rendszer átviszi a QIASymphony SP készülékre, és a Complex800_OBL_V4_DSP protokollnak megfelelően dolgozza fel őket.

Megjegyzés: A Complex800_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 80 µl proteináz K-t, 295 µl ATL puffert (ATL), 120 µl hordozó RNS – belsőkontroll-keveréket, valamint 560 µl ACL puffert egy 4,5 ml-es csőbe (Nunc CryoTube 12,5 x 92 mm, 4,5 ml-e polipropilén cső, Nunc katalógusszám: 363452).

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 1055 µl-t egy 4,5 ml-es 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 800 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. Röviden centrifugálja a csövet, hogy eltávolítsa a cseppeket a fedél belső felszínéről. 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 felülúszó eltávolítását követően a pellet legalább 800 µl ATL pufferben (ATL) (katalógusszám: 939016) reszuszpendálható. A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 800 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 Complex800_OBL_V4_DSP protokoll elindítása előtt enzimátikus előkezeléssel javítható.

1. Tíz percen keresztül 5000 x g-vel végzett centrifugálással szemcsésítse a baktériumokat.
2. Oldja fel a bakteriális pelletet 800 µl megfelelő enzimoldatban (20 mg/ml lizoszóma vagy 200 µg/ml lizosztafin; 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X--100).
3. Inkubálja 37 °C-on legalább 30 percig (± 2 perc).
4. A fedél belsején lévő cseppek eltávolításához rövid ideig centrifugálja a csövet.
5. A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 800 µl 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 800 µl előkezelt mintát.

Szárított testnedv- és váladékkenetek

1. Merítse a pálcá megszáritott végét 1050 µl ATL pufferbe (ATL) (katalógusszám: 939016), és folyamatos keverés mellett inkubálja 56 °C-on 15 percig (± 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 800 µl 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 800 µl álljon rendelkezésre.

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 többletnyákot 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

* Sputasol (Oxoid, katalógusszám: SR0233, www.oxoid.com) vagy ditiotreitolt (DTT).

† A gyártók listája nem teljes.

transzport táptalajban benne van a pálca, akkor ezt a lépést a pálca eltávolítása előtt végezze el). A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 800 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 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 védelmen kívül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel. 12/2017 HB-0301-S31-002 © 2017 QIAGEN, minden jog fenntartva.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com | Webhely: www.qiagen.com