

2017. december

QIASymphony[®] SP protokoll lap

Complex400_V4_DSP protokoll

Jelen dokumentum a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit 1. verziójához készült Complex400_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	Complex400_V4_DSP
Alapértelmezett tesztkontroll-készlet	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Szerkeszthető	Eluátum térfogata: 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 (vízelet, 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” (Reagensok és fogyóeszközök) fiók

A1 és/vagy A2 pozíció	Reagenskazetta (Reagent cartridge, RC)
B1 pozíció	ATL puffer (ATL)
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

„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††	34	60	86	112
Egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek, 1500 µl††	123	205	295	385
Minta-előkészítő kazetták§	18	36	54	72
8-as rúdburkolatok¶	3	6	9	12

* Kötegenként egynél több belső kontroll használata, illetve egynél több készletellenőrzés esetén további egyszer használatos, szűrővel rendelkező hegyek szükségesek. Ha kötegenként 24-nél kevesebb mintát használ, csökken a futtatásonként szükséges egyszer használatos, szűrővel rendelkező 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 belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – AVE puffer (AVE) keveréket tartalmazó csövek csőtartóba kerülnek. A belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – AVE puffer (AVE) keverék(ek)et tartalmazó csőtartót a „Sample” (Minta) fiók A nyílásába kell helyezni.

A feldolgozni kívánt minták számától függően 2 ml-es csövek (Sarstedt, katalógusszám: 72.693 vagy 72.694), illetve 14 ml-es 17×100 mm méretű polisztirol, lekerekített aljú csövek (Becton Dickinson, katalógusszám: 352051) használatát javasoljuk a belső kontroll hígításához, az alábbi táblázatban foglaltaknak megfelelően. A térfogat 2 vagy több csőbe is szétosztható.

A belsőkontroll-keverék térfogatának kiszámítása

Cső típusa	A QIASymphony készülék érintőképernyőjén megjelenő név	A belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – AVE puffer (AVE) keverék térfogatának kiszámítása csővenként
2 ml-es mikrocső kupakkal; 2 ml-es mikrocső; PP, PEREMES, (Sarstedt, katalógusszám: 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
2 ml-es mikrocső kupakkal; 2 ml-es mikrocső; PP, PEREM NÉLKÜLI, (Sarstedt, katalógusszám: 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
14 ml-es, 17 × 100 mm méretű, polisztirolból készült, lekerekített aljú csövek (Becton Dickinson, katalógusszám: 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Ezt az egyenletet használja a belsőkontroll-keverék szükséges térfogatának kiszámításához ($n = a$ minták száma; $120 \mu\text{l} = a$ belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – AVE puffer (AVE) keverék térfogata; $360 \mu\text{l} =$ csővenként szükséges holtterefogat). 12 minta esetén például ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Ne töltsön a csőbe 1,9 ml-nél nagyobb mennyiséget (azaz csővenként maximum 12 minta legyen). Amennyiben 12-nél több mintát dolgoz fel, használjon további csöveket, és győződjön meg arról, hogy hozzászámolta a holtterefogatot a csövekhez.

† Ezt az egyenletet használja a belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – AVE puffer (AVE) keverék szükséges térfogatának kiszámításához ($n = a$ minták száma; $120 \mu\text{l} = a$ belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – AVE puffer

(AVE) keverék térfogata; 600 µl = csővenként szükséges holtterefogat). 96 minta esetén például (n = 96): (96 x 120 µl) + 600 µl = 12120 µl.

A szükséges inzeretek leírását lásd www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

FIX laboreszközök használata

A folyadékszint-észlelés (liquid-level detection, LLD) alkalmazása a minta átvitele során lehetővé teszi elsődleges és másodlagos csövek használatát. Ez azonban bizonyos holtterefogatot igényel az egyes csövekben. A holtter minimalizálása érdekében másodlagos csövek folyadékszint-észlelés nélkül használhatók. Speciális FIX laboreszközök állnak rendelkezésre (pl. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), amelyek szintén kiválaszthatók a QIASymphony SP készülék érintőképernyőjén. Ezzel a cső-/állványtípussal aspirációs korlátozások járnak együtt. A minta az átvinni kívánt minta térfogata által meghatározott adott magasságba szívódik fel a csőben. Ennélfogva elengedhetetlenül fontos, hogy mindenképp a laboreszközök listájában szereplő térfogatot alkalmazzák. A laboreszközök listája letölthető a www.qiagen.com/goto/dsphandbooks címen.

A folyadékszint-észleléssel vagy anélkül alkalmazható mintacsövek és a szükséges mintatérfofogatok felsorolása is a www.qiagen.com/goto/dsphandbooks címen olvasható. Ne használjon a szükséges térfogatnál nagyobb vagy kisebb térfogatot, mivel ez hibákhoz vezethet a minta-előkészítés során.

Egy kötegen/futtatáson belül feldolgozhatók folyadékszint-észleléssel történő alkalmazásra és folyadékszint-észlelés nélküli alkalmazásra szolgáló csövek.

A mintaanyag előkészítése

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).

Vizelet

A vizelet további előkezelés nélkül feldolgozható. Vigye át a mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694), és helyezze a mintát a csőtartóba. Másik lehetőségként elsődleges csövek is használhatók. A szükséges minimális kezdőtérfofogat az alkalmazott elsődleges cső függvényében változhat. A kompatibilis elsődleges és másodlagos csőtípusok, továbbá az egyes protokollokhoz szükséges minimális kezdőtérfofogat felsorolása a www.qiagen.com/goto/dsphandbooks címen olvasható. 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 500 µl ATL pufferben (ATL) (katalógusszám: 939016) reszuszpendálható. Vigye át a mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Helyezze a csövet a csőtartóba, és a Complex400_V4_DSP protokollal, valamint a szükséges FIX laborszerekkel dolgozza fel a 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_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 500 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. Vigye át a mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694), helyezze a mintát a csőtartóba, és folytassa a Complex400_V4_DSP protokollal, valamint a szükséges FIX laborszerekkel.

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 (w/v) DTT-oldat előre elkészíthető, és alikvotokban –20 °C-on tárolható. A kiolvasztott alikvotokat használat után dobja ki.
2. Inkubálja 37 °C-on mindaddig, amíg a minta viszkozitása pipettázásra alkalmassá válik.
3. Vigyen át legalább 500 µl mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Complex400_V4_DSP protokoll alkalmazásával dolgozza fel a mintát.

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

[†] A gyártók listája nem teljes.

Szárított testnedv- és váladékketetek

1. Merítse a pálca megszáritott végét 750 µl 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. Vigyen át legalább 500 µl mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Complex400_V4_DSP protokoll alkalmazásával dolgozza fel a 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 500 µl álljon rendelkezésre.

Transzport táptalajon tárolt légzőszervi és húgy-ivar szervrendszeri 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 többletnyádot 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 nyádot 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 kiindulási 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). Vigye át a mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694), és helyezze a mintát a csőtartóba. Másik lehetőségként elsődleges csövek is használhatók. A szükséges minimális kezdőtérfogat az alkalmazott elsődleges cső függvényében változhat. A kompatibilis elsődleges és másodlagos csőtípusok, továbbá az egyes protokollokhoz szükséges minimális kezdőtérfogat felsorolása a www.qiagen.com/goto/dsphandbooks címen olvasható.

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-S28-002 © 2017 QIAGEN, minden jog fenntartva.

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