

2017. december

QIASymphony[®] SP protokoll lap

Complex200_V6_DSP protokoll

Jelen dokumentum a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit 1. verziójához készült Complex200_V6_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 Mini Kit
Minta típusa	Légzőszervi és húgy-ivarszervi minták
Protokoll neve	Complex200_V6_DSP
Alapértelmezett tesztkontroll-készlet	ACS_Complex200_V6_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 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 csövenként
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 x 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; $360 \mu\text{l} =$ csövenként 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 csöbe 1,9 ml-nél nagyobb mennyiséget (azaz csövenként 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; $600 \mu\text{l} =$ csövenként szükséges holtterefogat). 96 minta esetén például ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

A szükséges inzertek 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 csöben. Ennélfogva elengedhetetlenül fontos, hogy mindenképp a laboreszközök listájában szereplő terfogatokat alkalmazzák. A laboreszközök listája letölthető a www.qiagen.com/goto/dsphandbooks címen.

A folyadékszint-észleléssel vagy anélkül alkalmazható mintacsövek és a szükséges mintaterfogatok felsorolása is a www.qiagen.com/goto/dsphandbooks címen olvasható. Ne használjon a szükséges terfogatnál nagyobb vagy kisebb terfogatokat, 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 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. A rendszer tartósítószeret nem tartalmazó, tiszta vizeletmintákra van optimalizálva. A bakteriális kórokozók iránti érzékenység fokozása érdekében a minták centrifugálhatók. A felülúszó eltávolítását követően a pellet legalább 300 µl ATL pufferben (ATL) (katalógusszám: 939016) reszuszpendálható. Vigyen át 220 µl mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Helyezze a csövet a csőtartóba, és a Complex200_V6_DSP protokollal, valamint a szükséges FIX laboreshozközökkel 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 Complex200_V6_DSP protokoll elindítása előtt enzimatisikus előkezeléssel javítható.

1. Tíz percen keresztül 5000 x g-vel végzett centrifugálással szemcsésítse a baktériumokat.
2. Oldja fel a bakteriális pelletet 300 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 Complex200_V6_DSP protokollal, valamint a szükséges FIX laboreshozközökkel.

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 300 µl mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Complex200_V6_DSP protokoll alkalmazásával dolgozza fel a mintát.

Szárított testnedv- és váladékkenetek

1. Merítse a pálcát megszáritott végét 550 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. Vigyen át legalább 300 µl mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Complex200_V6_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 300 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

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

† A gyártók listája nem teljes.

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). 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-S26-002 © 2017 QIAGEN, minden jog fenntartva.

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