

## Informace o produktu

### MALDI Biotarget 48



#### Jednorázové MALDI destičky k identifikaci mikroorganismů

CARE produkty jsou vysoce kvalitní spotřební materiál, příslušenství a specializované soupravy, vytvořené jako podpora pro naše zákazníky po celém světě.

Produktová řada CARE je přesně optimalizovaná a certifikovaná pro použití na všech systémech Bruker Daltonics.

[www.care-bdal.de](http://www.care-bdal.de) / [www.care-bdal.com](http://www.care-bdal.com)

<b>Popis produktu</b> .....	<b>2</b>
<b>Požadavky hardwaru</b> .....	<b>3</b>
<b>Požadavky softwaru</b> .....	<b>4</b>
<b>Umístění MALDI Biotarget 48 na Biotarget Adaptér</b> .....	<b>5</b>
<b>Načtení čárových kódů</b> .....	<b>5</b>
<b>Načítání a instruktaž geometrie terčíků</b> .....	<b>6</b>
<b>Kultivace mikroorganismů (Původní materiál)</b> .....	<b>7</b>
<b>Příprava vzorků na MALDI Biotarget 48</b> .....	<b>8</b>
Příprava matrice .....	8
Postup přímé identifikace .....	8
Postup extrakce Ethanol/Kyselina mravenčí .....	9
Příprava standardního roztoku pro Bruker Bakteriální Test .....	10
<b>Podpora</b> .....	<b>10</b>

## Popis produktu

MALDI Biotarget 48 je jednorázová MALDI destička pro identifikaci mikroorganismů v pracovním postupu MALDI Biotyper. Vyrábí se se 48 terčíky a 5 kalibračními pozicemi. Jednorázový design zabraňuje jakémukoliv riziku zkřížené kontaminace díky nesprávnému čištění. Každý Biotarget destička se také dodává se strojově čitelným unikátním identifikačním kódem.

### Informace pro objednání

<b>Produkt</b>	<b>Katalogové číslo</b>
MALDI Biotarget48 (balení 25 destiček)	#268711
Biotarget Adaptér	#267615
Čtečka čárových kódů pro MALDI Biotarget 48	#268821
Přepravní box pro MALDI Biotarget 48 (balení 10 boxů)	#270006
MTP MSP Adaptér	#226413
HCCA matrice, po dávkách (balení 10 zkumavek)	#255344
Standard pro Bruker bakteriální test (balení 5 zkumavek)	#255343

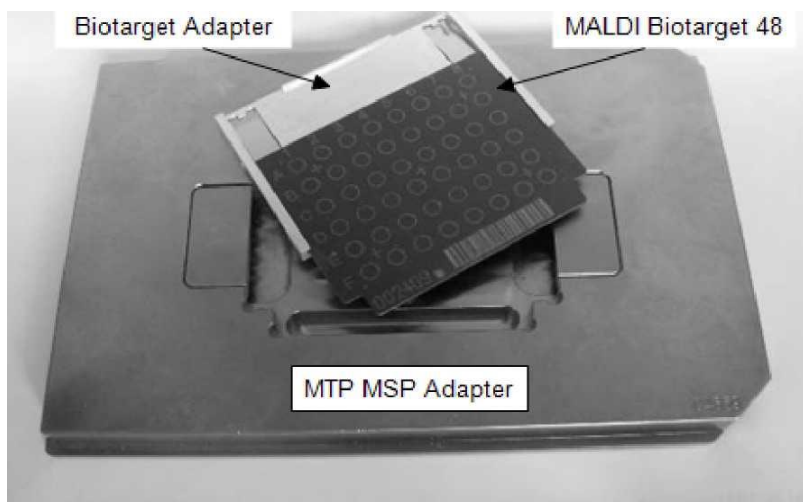
# Požadavky hardwaru

## microflex™ LT

- + Biotarget Adaptér (kat.č. #267615)

## autoflex™ speed

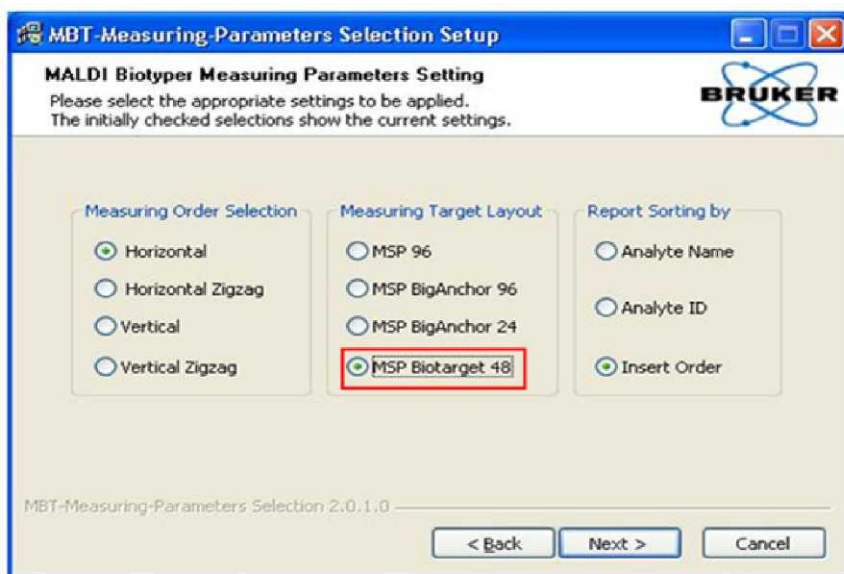
- + Biotarget Adaptér (kat.č. #267615)
- + MTP MSP adaptér (kat.č. #226413)



Obrázek 1 MALDI Biotarget 48 s Biotarget adaptérem (kat.č. # 267615) a MTP MSP adaptérem (kat.č. # 226413)

# Požadavky softwaru

- **MALDI Biotyper 3.0 + Compass 1.3 nebo novější**
- **Biotarget nastavení geometrie**
  - Biotarget Nastavení geometrie lze stáhnout z [www.bdal.com/268711](http://www.bdal.com/268711).
  - Před prvním použitím MALDI Biotarget 48 nejprve spusťte nastavení. Nastavení umožní flexControl rozpoznat geometrii Biotarget terčků.
  - Před spuštěním instalace nejprve zavřete flexControl software
  - Proveďte instalaci z uživatelského účtu, který bude používán pro měření.
- **TargetChangeTool 2.0.1**
  - TargetChangeTool 2.0.1 lze stáhnout z [www.bdal.com/268711](http://www.bdal.com/268711).
  - Odzipujte tento nástroj a zkopírujte na pracovní plochu uživatelského účtu (ne administrátorský účet).
  - Nástroj umožňuje předvýběr upřednostňovaných MALDI testů v automatizovaném pracovním postupu MALDI Biotyper .
  - Průvodce automatické kontroly se musí zavřít.



Obr. 2 Dialog pro nastavení výběru MBT-měřených parametrů

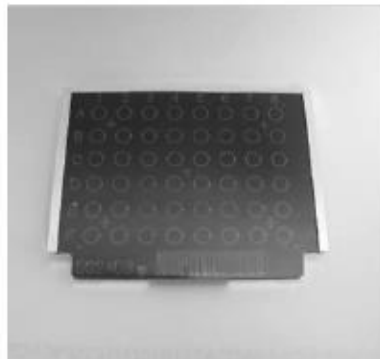
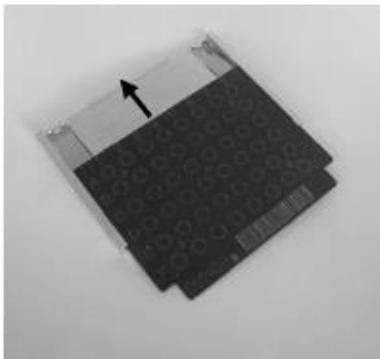
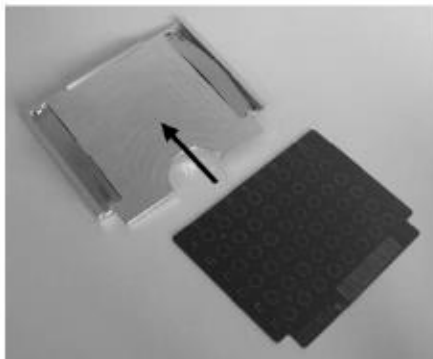
# Montáž MALDI Biotarget 48 na Biotarget Adaptér

Buďte opatrní, abyste při montáži adaptéru nepoškodili MALDI Biotarget 48 (viz obrázek 3).

## NEBEZPEČÍ POŘEZÁNÍ



Terč je křehký a při zlomení nebo poškození se můžete pořezat.



## Přečtení čárového kódu

Každý MALDI Biotarget 48 je vybaven jedinečným sériovým číslem a strojově čitelným identifikačním čárovým kódem, obsahujícím číslo dílu, sériové číslo a dvě validační číslice.

Bruker nabízí speciální CCD čtečku čárových kódů (kat.č. #268821).

**Poznámka** Na MALDI Biotarget testech nelze odečítat čárový kód pomocí laserového scanneru.

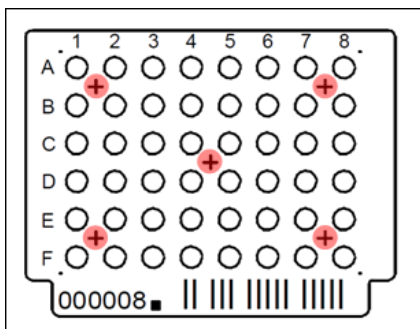
Doporučujeme, abyste nakonfigurovali čtečku čárových kódů pro přidání nového řádku po čárovém kódu a to použitím čárového kódu na obrázku 4.



Obrázek 4 Konfigurace čárového kódu. Vytiskněte a oskenujte tento kód kvůli inicializaci čtečky.

## Načítání a instruktáž geometrie terčů

MALDI Biotarget 48 se dodává s pěti kalibračními pozicemi (BTS 0 - BTS 4) označenými křížky (viz obrázek 5). Proces kalibrace pro identifikaci mikroorganismů je podrobně popsán v SOP dokumentu *MALDI Biotyper Postup Kalibrace*.



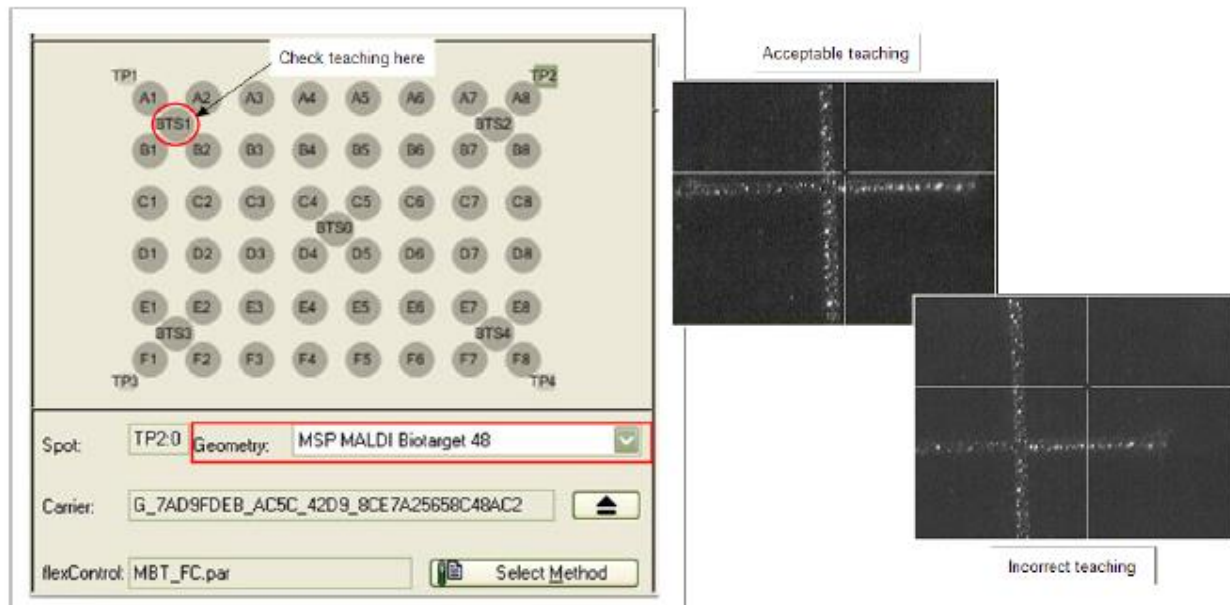
**Obrázek 5** Pozice kalibračních bodů na MALDI Biotarget 48

Tyto body se používají rovněž pro instruktáž geometrie.

**DŮLEŽITÉ** Metoda flexControl se musí recalibrovat po změně geometrie terčů k nebo od geometrie MALDI Biotarget 48. Pokud selže autokalibrace (tlačítko autokalibrace ve flexControl 3.3), uživatel musí systém kalibrovat manuálně.

### K instruktáži MSP MALDI Biotarget 48 geometrie

1. Ujistěte se, že v rozbalovacím seznamu **Geometry** ve flexControl je vybrán<sup>1</sup> **MSP MALDI Biotarget 48** (viz obrázek 6).



**Obrázek 6** Načtěte správnou geometrii terčů ve flexControl a zkontrolujte, že učební body jsou správně.

2. Po vložení MALDI Biotarget 48 do hmotnostního spektrometru vždy zkontrolujte instruktáž výběrem "BTS 1" (viz obrázek 6) a zkontrolujte, zda vyražený kříž na povrchu terčů odpovídá nitkovému kříži v obrazovém okně flexControl.

<sup>1</sup> Pokud nelze definovat geometrii (je zašedlá), vyberte volbu **none** v poli **Run** v záložce **AutoXecute**.

3. Pokud je instruktaž nesprávná, nahrajte Výchozí instruktaž (Default Teaching) kliknutím na odpovídající tlačítko na záložce **Sample Carrier** ve flexControl. Znovu ověřte **BTS 1** pozici bodu.
4. Pokud je instruktaž stále nesprávná, musí se provést nová:
  - a. V záložce **Sample Carrier**, vyberte **Advanced > Teach**.
  - b. Otevře se okno učebních pozic (Teach Position). Přesuňte nosič vzorku na první učební pozici **BTS1** kliknutím na tlačítko **Go** vedle **BTS1**. Vyrovnajte pozici kříže vyraženého na povrchu terčíku s nitkovým křížem v obrazovém okně flexControl. Potom klikněte na tlačítko **Reached** vedle **BTS1**.
  - c. Stejným způsobem provedte instruktaž pro **BTS2** a **BTS4**.
  - d. Klikněte na **Save As Default Teaching** a následně na **OK**.

## Kultivace mikroorganismů (Původní materiál)

Podmínky kultivace mají malý efekt na vytvoření spektra. Zhoršení růstových podmínek vede pouze k minimálním odchylkám v seznamech maximálních hodnot (píků), kdy téměř všechny píky zůstávají stále vysoce reprodukovatelné. Lze použít média, jako jsou LB, YPD, nebo krevní agar, stejně jako lze různá růstová stádia nebo růstové teploty.

Nicméně v zájmu reprodukovatelnosti, by se tam, kde je to možné, mělo pro kultivaci mikroorganismů používat to stejné médium a růstové podmínky.

Pokud je to možné, používejte čerstvě narostlý materiál (nárůst přes noc). V případě pomalu rostoucích bakterií lze použít několikadenní bakteriální kulturu.

Pokud jsou kultivační misky skladovány při 4°C, kvalita spektra relativně rychle klesá (během několika dní). Misky lze uchovávat při pokojové teplotě několik dní.

# Příprava vzorků na MALDI Biotarget 48

Existují dva standardní protokoly pro přípravu vzorků u mikroorganismů profilovaných s MALDI Biotyper a MALDI Biotarget48:

- Postup přímé identifikace (viz níže)
- Extrakce v etanolu/ kyselině mravenčí (viz strana 9)

Oba protokoly jsou aplikovatelné na ocelové destičky stejně jako na MALDI Biotarget.

## 48. Základní požadavky

- Vždy pravé zkumavky Eppendorf (např. kat.č. 0030120.086) a špičky. Plasty od jiných výrobců mohou uvolňovat změkčovadla, která mohou negativně ovlivnit výsledky.
- Používejte pouze chemikálie o vysoké čistotě (HPLC nebo MALDI třída)

## Příprava Matrix roztoku

### Materiály

- HCCA matrice, porcovaná (Bruker kat.č. #255344)
- Acetonitril >99.9%, LC-MS CHROMASOLV<sup>®</sup> jakost u Fluka (# 34967, Sigma-Aldrich GmbH)
- Kyselina trifluoroctová >98,5% (*ReagentPlus*<sup>®</sup> jakost u Sigma-Aldrich) (# T62200, Sigma-Aldrich GmbH)
- Ultra purifikovaná voda, CHROMASOLV<sup>®</sup> pro HPLC (# 270733, Sigma-Aldrich GmbH)

1. Pipetujte 500 µl acetonitrilu, 475 µl vody a 25 µl čisté TFA do čisté Eppendorf zkumavky a promíchejte opětovným nasátím a vypuštěním tekutiny. Tento roztok se nazývá „Zásobní roztok“.

Alternativně použijte komerčně dostupné rozpouštědlo od Sigma Aldrich (Acetonitril 50%, Voda 47.5% a Kyselina trifluoroctová 2.5%, katalogové číslo 19182).

2. Pipetujte 250 µl Zásobního roztoku připraveného v bodě 1 do zkumavky s HCCA matricí a vortexujte dokud nejsou všechny krystaly matrice zcela rozpuštěné.

Připravený roztok matrice lze uchovávat ve tmě (vyvarujte se vystavení UV světla) při pokojové teplotě po několik dní.

## Postup přímé identifikace

1. Potřete biologický materiál (jednu kolonii) jako tenkou vrstvu přímo na vzorkový terčík MALDI Biotarget 48.

Lze použít pipetovací špičky nebo inokulační kličky. Pro měření je vyžadováno pouze malé (stěží viditelné) množství.

2. Přelijte biologický materiál 1 µl roztoku matrice.
3. Nechejte před analýzou desku uschnout na vzduchu.



## Postup extrakce etanol/kyselina mravenčí

Pokud selže metoda přímého přenosu, lze tuto metodu použít pro zvýšení účinnosti proteinové extrakce a zajištění kvalitních výsledků.

Abyste zabránili jakékoliv oxidační reakci, které vede k posunu píků, je velmi důležité pracovat rychle. Vzorkové terčíky by měly být překryty HCCA matricí co nejrychleji po usušení (během pár minut).

### Materiály

- absolutní etanol, >99.8% (GC), (nedenaturovaný) (# 24102, Sigma-Aldrich GmbH)
- 70% kyselina mravenčí (puriss. p.a., ~98% (T) [# 06440, Sigma-Aldrich GmbH])
- Ultra purifikovaná voda, CHROMASOLV® pro HPLC (# 270733, Sigma-Aldrich GmbH)
- Acetonitril >99.9%, LC-MS CHROMASOLV® jakost u Fluka (# 34967, Sigma-Aldrich GmbH)

1. Pipetujte 300 µl vody do čisté zkumavky Eppendorf.
2. Přeneste 10 mg biologického materiálu do zkumavky a důkladně promíchejte kvůli důkladnému rozptýlení buněk ve vodě.

Množství použitého materiálu se může lišit od jedné kolonie po 10 mg.

3. Přidejte do zkumavky 900 µl 100% etanolu a důkladně promíchejte.
4. Centrifugujte při 13,000 rpm ve stolní centrifuze po dobu 2 minut a slijte supernatant. Centrifugujte další 2 minuty a odstraňte s použitím pipety zbytek ethanolu z peletek.

U mikroorganismů přítomných v malých koncentracích nebo těch, které mají robustní buněčnou stěnu, sušte EtOH peletky několik minut při pokojové teplotě, čímž zvýšíte účinnost extrakce.

5. Přidejte k peletkám mezi 1-80 µl 70% kyseliny mravenčí a důkladně promíchejte pipetou a/nebo vortexem. Přidejte do zkumavky stejný objem acetonitrilu a opatrně promíchejte.

Objem přidávané kyseliny mravenčí a acetonitrilu k peletkám by měl být odpovídající množství biologického materiálu přeneseného v bodě 2.

	Malá jednotlivá kolonie	Velká jednotlivá kolonie	1 µl inokulační klička	10 µl inokulační klička
Kyselina mravenčí	1-5 µl	5-15 µl	10-40 µl	30-80 µl
Acetonitril	1-5 µl	5-15 µl	10-40 µl	30-80 µl

6. Centrifugujte při maximální rychlosti ve stolní centrifuze po dobu 2 minut a pipetujte celkem 1 µl supernatantu do vzorkového terčíku MALDI Biotarget 48.
7. Jakmile vzorkový terčík zaschne, přelijte vzorek 1 µl HCCA matricí a nechejte před analýzou uschnout na vzduchu.

# Příprava standardního roztoku pro Bruker Bakteriální Test

## Materiály

- Standard pro Bruker Bakteriální test (Bruker kat.č. # 255343)
- Acetonitril >99.9%, LC-MS CHROMASOLV<sup>®</sup> jakost u Fluka (# 34967, Sigma-Aldrich GmbH)
- Kyselina trifluoroctová >98,5% (*ReagentPlus*<sup>®</sup> jakost u Sigma-Aldrich) (# T62200, Sigma-Aldrich GmbH)
- Ultra purifikovaná voda, CHROMASOLV<sup>®</sup> pro HPLC (# 270733, Sigma-Aldrich GmbH)

1. Pipetujte 500 µl acetonitrilu, 475 µl vody a 25 µl čisté TFA do čisté Eppendorf zkumavky a promíchejte opětovným nasátím a vypuštěním tekutiny. Tento roztok se nazývá „Zásobní roztok“.

Alternativně použijte komerčně dostupné rozpouštědlo od Sigma Aldrich (Acetonitril 50%, Voda 47.5% a Kyselina trifluoroctová 2.5%, katalogové číslo 19182).

2. Pipetujte 50 µl Zásobního roztoku připraveného v bodě 1 do zkumavky se standardem Bruker Bakteriálního testu a rozpustěte opakovaným nasátím a vypuštěním tekutiny nejméně 20x.
3. Inkubujte roztok standardu pro Bruker Bakteriální test po dobu 5 minut a ujistěte se, že je zcela rozpuštěný nasátím a vypuštěním tekutiny zpět nejméně 20x.
4. Centrifugujte při 13,000 rpm ve stolní centrifuze po dobu 2 minut.
5. Aplikujte 0.5 µl BTS do jakékoliv BTS pozice a nechejte uschnout.
6. Přidejte 0.5 µl roztoku matrix a nechejte zaschnout.

Rozpuštěný standard lze skladovat až 5 měsíců při teplotě  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  nebo nižší. Může být detekováno pár produktů oxidace, ale ti významně neovlivní kvalitu spektra.

## Podpora

E-mail: [care@bdal.de](mailto:care@bdal.de)

Telefon: +49421 2205-0

Web: [www.care-bdal.de](http://www.care-bdal.de)

Pouze pro výzkumné účely. Nepoužívejte při diagnostických postupech.

Popisy a specifikace nahrazují veškeré dřívější informace a lze je bez předchozího upozornění měnit.

© Copyright 2011 Bruker Daltonik GmbH