



Junij 2022

Navodila za uporabo kompleta QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit (protokolni list)

Protokol Complex400_V4_DSP

Različica 2

IVD

Samo za diagnostično uporabo in vitro

Za uporabo s kompletom QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit



REF

937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Nemčija

R1

Protokolni list je na voljo v elektronski obliki in ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com.

Splošne informacije

Komplet QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit je namenjen za in vitro diagnostično uporabo.

Komplet	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Vzorčni material	Respiratorni in urogenitalni vzorci
Ime protokola	Complex400_V4_DSP
Privzeti testni kontrolni komplet	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Z možnostjo urejanja	Volumen eluata: 60, 85 in 110 µl
Zahtevana različica programske opreme	Različica 4.0 ali novejša
Zahtevana konfiguracija programske opreme za diagnostično uporabo in vitro (In Vitro Diagnostics, IVD)	Privzeti profil 1

Predal »Sample« (Vzorec)

Vrsta vzorca	Urin, urogenitalni brisi (v mediju za transport, npr. PreservCyt®, UTM, eNAT™) in respiratorni brisi (posušene paličice ali v mediju za transport, npr. UTM, eNAT)
Volumen vzorca	Odvisno od vrste uporabljene epruvete za vzorec; za več informacij glejte seznam laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com .
Volumen obdelanega vzorca	Za več informacij glejte seznam laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com .
Primarne epruvete za vzorec	Za več informacij glejte seznam laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com .
Sekundarne epruvete za vzorec	Odvisno od vrste uporabljene epruvete za vzorec; za več informacij glejte seznam laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com .
Vstavki	Odvisno od vrste uporabljene epruvete za vzorec; za več informacij glejte seznam laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com .
Drugo	Potrebna je zmes prenašalne RNA in pufra Buffer AVE; uporaba interne kontrole ni obvezna

Predal »Reagents and Consumables« (Reagenti in potrošni materiali)

Položaj A1 in/ali A2	Kartuša z reagentom (Reagent Cartridge, RC)
Položaj B1	Buffer ATL (ATL)
Držalo za stojalo za konice 1–17	Konice za filtre za enkratno uporabo, 200 µl
Držalo za stojalo za konice 1–17	Konice za filtre za enkratno uporabo, 1500 µl
Držalo za škatlo 1–4	Škatle s kartušami za pripravo vzorca
Držalo za škatlo 1–4	Škatle, ki vsebujejo 8-Rod Covers

Predal »Waste« (Odpadki)

Držalo za škatlo 1–4	Prazne škatle
Držalo za vrečo za odpadke	Vreča za odpadke
Držalo za steklenico za tekoče odpadke	Steklenica za tekoče odpadke

Predal »Eluate« (Eluat)

Stojalo za elucijo (priporočamo uporabo reže 1, položaj za hlajenje)

Za več informacij glejte seznam laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com.

Potrebni plastični pripomočki

Plastični pripomočki	Ena serija 24 vzorcev*	Dve seriji 48 vzorcev*	Tri serije 72 vzorcev*	Štiri serije 96 vzorcev*
Disposable filter-tips, 200 µl ^{††}	34	60	86	112
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	123	205	295	385
Sample prep cartridges	18	36	54	72
8-Rod Covers ^{††}	3	6	9	12

* Ob uporabi več kot ene interne kontrole na serijo in izvedbi več kot enega skeniranja inventarja so potrebne dodatne konice za filtre za enkratno uporabo. Ob uporabi manj kot 24 vzorcev na serijo se zmanjša število konic za filtre za enkratno uporabo, potrebnih za en postopek.

[†] Stojalo za konice vsebuje 32 konic za filtre.

[‡] Število potrebnih konic za filtre vključuje konice za filtre za 1 skeniranje inventarja na kartušo z reagentom (Reagent Cartridge, RC).

[§] Škatla vsebuje 28 kartuš za pripravo vzorca.

[¶] Škatla vsebuje dvanajst pokrovčkov za 8 palic (8-Rod Covers).

Opomba: Število navedenih konic za filtre se glede na nastavitve lahko razlikuje od števil, prikazanih na zaslonu na dotik. Priporočamo, da vstavite največje možno število konic.

Izbrani elucijski volumen

Izbrani elucijski volumen (µl)*	Začetni elucijski volumen (µl) [†]
60	90
85	115
110	140

* Elucijski volumen, izbran na zaslonu na dotik. To je najmanjši dosegljiv volumen eluata v končni epruveti za elucijo.

[†] Začetni volumen elucijske raztopine, ki je potreben za zagotovitev, da je dejanski volumen eluata enak kot izbrani volumen.

Priprava zmesi interne kontrole–prenašalne RNA (CARRIER)–pufra Buffer AVE (AVE)

Izbrani elucijski volumen (µl)	Volumen osnovne prenašalne RNA (CARRIER) (µl)	Volumen interne kontrole (µl)*	Volumen pufra Buffer AVE (AVE) (µl)	Končni volumen na vzorec (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Izračun količine interne kontrole temelji na začetnih elucijskih volumnih. Dodatni prosti volumen je odvisen od vrste uporabljene epruvete za vzorec; za več informacij glejte seznam laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com.

Opomba: Vrednosti, prikazane v preglednici, so za pripravo zmesi interne kontrole–prenašalne RNA (CARRIER) za nadaljnji test, pri katerem je potrebno 0,1 µl interne kontrole/µl eluata.

Epruvete, ki vsebujejo zmes interne kontrole–prenašalne RNA (CARRIER)–pufra Buffer AVE (AVE), se namestijo v nosilec za epruvete. Nosilec za epruvete, ki vsebuje zmes interne kontrole–prenašalne RNA (CARRIER)–pufra Buffer AVE (AVE), je treba namestiti v reži A v predal »Sample« (Vzorec).

Ovisno od števila vzorcev, ki jih želite obdelati, priporočamo uporabo 2-ml epruвет (Sarstedt, kat. št. 72.693 ali 72.694) ali epruвет iz polistirena z okroglim dnom 14 ml, 17 x 100 mm (BD™, kat. št. 352051) za redčenje interne kontrole, kot je opisano v spodnji preglednici. Volumen je mogoče razdeliti v 2 ali več epruвет.

Izračun volumna zmesi interne kontrole

Vrsta epruветe	Ime na zaslonu na dotik QIASymphony	Izračun volumna zmesi interne kontrole–prenašalne RNA (CARRIER)–pufra Buffer AVE (AVE) na epruветo
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted, (Sarstedt, kat. št. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted, (Sarstedt, kat. št. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD§, kat. št. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\ddagger$

* Uporabite to enačbo za izračun potrebnega volumna zmesi interne kontrole (n = število vzorcev; $120 \mu\text{l}$ = volumen zmesi interne kontrole–prenašalne RNA (CARRIER)–pufra Buffer AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = prosti volumen, potreben na epruветo). Na primer za 12 vzorcev ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Ne napolnite epruветe z več kot 1,9 ml (to pomeni največ 12 vzorcev na epruветo). Če bo obdelanih več kot 12 vzorcev, uporabite dodatne epruветe in poskrbite, da bo dodan prosti volumen na epruветo.

† Uporabite to enačbo za izračun potrebnega volumna zmesi interne kontrole–prenašalne RNA (CARRIER)–pufra Buffer AVE (AVE) (n = število vzorcev; $120 \mu\text{l}$ = volumen zmesi interne kontrole–prenašalne RNA (CARRIER)–pufra Buffer AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = prosti volumen, potreben na epruветo). Na primer za 96 vzorcev ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

§ BD je bil prejšnji dobavitelj teh epruвет, novi dobavitelj pa je družba Corning Inc.

Za potrebne vstavke glejte seznam laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com.

Uporaba laboratorijske opreme FIX

Uporaba zaznavanja ravni tekočine (Liquid-Level Detection, LLD) za prenos vzorca omogoča uporabo primarnih in sekundarnih epruвет. Vendar to zahteva določen mrtev volumen v zadevnih epruветah. Za zmanjšanje mrtvega volumna je treba sekundarne epruветe uporabljati brez zaznavanja ravni tekočine. Na voljo je posebna laboratorijska oprema FIX (npr. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), ki jo je mogoče izbrati tudi na zaslonu na dotik naprave QIASymphony SP. Ta vrsta epruветe/stojala prinaša omejitve glede aspiracije. Vzorec se aspirira na določeni višini v epruветi, kar je odvisno od volumna vzorca, ki ga želite prenesti. Zato je bistvenega pomena zagotoviti, da je uporabljen volumen, naveden na seznamu laboratorijske opreme. Seznam laboratorijske opreme je na voljo za prenos na www.qiagen.com na zavihku z viri na strani izdelka.

Epruветe za vzorec, ki jih je mogoče uporabiti skupaj z zaznavanjem ravni tekočine ali brez ter potrebni volumni vzorcev so prav tako navedeni na seznamu laboratorijske opreme, ki je na voljo na www.qiagen.com na zavihku z viri na strani izdelka. Ne uporabljajte volumna, ki je večji ali manjši od zahtevanega volumna, saj lahko to povzroči napake med pripravo vzorca.

Epruветe za zaznavanje ravni tekočine in epruветe, ki niso namenjene za zaznavanje ravni tekočine, je mogoče obdelati znotraj ene serije/postopka.

Priprava vzorčnega materiala

Pri delu s kemikalijami vedno nosite ustrezno laboratorijsko haljo, rokavice za enkratno uporabo in zaščitna očala. Več informacij poiščite v ustreznih varnostnih listih (Safety Data Sheets, SDS), ki so na voljo pri dobavitelju izdelka.

Preprečite nastajanje pene v ali na vzorcih. Odvisno od vhodnega materiala bo morda potrebna predhodna obdelava vzorca. Temperatura vzorcev se mora pred začetkom izvajanja postopka izenačiti s sobno temperaturo (15–25 °C).

Opomba: Stabilnost vzorca je močno odvisna od različnih dejavnikov in je povezana s specifičnim nadaljnjim postopkom. Za komplete QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit je bila določena v kombinaciji z vzorčnimi nadaljnjimi postopki. Uporabnik je odgovoren za to, da preveri navodila za uporabo specifičnega nadaljnega postopka, ki se uporablja v njihovem laboratoriju, in/ali validira celoten potek dela in določi ustrezne pogoje shranjevanja.

Za splošna priporočila glede odvzema, transporta in shranjevanja glejte odobreno smernico CLSI MM13-A »Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods« (Odvzem, transport, priprava in shranjevanje vzorcev za molekularne metode). Poleg tega je treba med pripravo, shranjevanjem, transportom in splošno obravnavo vzorca upoštevati proizvajalčeva navodila za izbrano napravo/komplet za odvzem vzorca.

Urin

Urin je lahko shranjen pri temperaturi 2–8 °C do 6 ur. Za daljše shranjevanje priporočamo zamrzovanje na –20 °C ali –80 °C. Urin je mogoče obdelati brez dodatne predhodne obdelave. Prenesite vzorec v 2-ml epruveto Sarstedt (kat. št. 72.693 ali 72.694) in namestite vzorec v nosilec za epruvete. Alternativno lahko uporabite primarne epruvete. Zahtevani minimalni začetni volumen se lahko razlikuje glede na uporabljeno primarno epruveto. Združljive oblike primarnih in sekundarnih epruвет, vključno z minimalnim začetnim volumnom, ki je potreben za vsak protokol, so navedene na seznamu laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com. Sistem je optimiziran za čiste vzorce urina, ki ne vsebujejo konzervansov. Za povečanje občutljivosti za bakterijske patogene je mogoče vzorce centrifugirati. Ko zavržete supernatant, lahko usedlino ponovno suspendirate v najmanj 500 µl pufru Buffer ATL (ATL) (kat. št. 939016). Prenesite vzorec v 2-ml epruveto Sarstedt (kat. št. 72.693 ali 72.694). Namestite vzorec v nosilec za epruvete in ga obdelajte z uporabo protokola Complex400_V4_DSP in zahtevano laboratorijsko opremo FIX.

Izolacija genomske DNK iz grampozitivnih bakterij

Za nekatere grampozitivne bakterije je mogoče izboljšati prečiščevanje DNK s predhodno encimsko obdelavo, preden prenesete vzorec v QIASymphony SP in zaženete protokol Complex400_V4_DSP.

1. Centrifugirajte 10 minut pri 5000 x g, da nastane usedlina z bakterijami.
2. Suspendirajte bakterijsko usedlino v 500 µl ustrezne encimske raztopine (20 mg/ml lizocima ali 200 µg/ml lizostafina v 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2-odstotni Triton X-100).
3. Inkubirajte najmanj 30 minut pri 37 °C.
4. Na hitro centrifugirajte epruveto in tako odstranite kapljice z notranje strani pokroščka.
5. Prenesite vzorec v 2-ml epruveto Sarstedt (kat. št. 72.693 ali 72.694), namestite vzorec v nosilec za epruvete ter nadaljujte s protokolom Complex400_V4_DSP in uporabite zahtevano laboratorijsko opremo FIX.

Viskozni ali mukozni vzorci

Nekateri vzorci so lahko viskozni in jih je treba utekočiniti, da jih lahko pipetirate. Vzorci z nizko viskoznostjo ne potrebujejo dodatne priprave. Vzorce s srednjo do visoko viskoznostjo je treba pripraviti na naslednji način:

1. Razredčite vzorec v razmerju 1 : 1 z 0,3-odstotnim (w/v) ditioneitolom (DTT).

Opomba: 0,3-odstotno raztopino ditioneitola (DTT) lahko pripravite vnaprej in jo hranite pri –20 °C v alikvotih. Odtaljene alikvote po uporabi zavržite.

2. Inkubirajte pri 37 °C, dokler viskoznost vzorca ni primerna za pipetiranje.
3. Prenesite najmanj 500 µl vzorca v 2-ml epruveto Sarstedt (kat. št. 72.693 ali 72.694). Obdelajte vzorec z uporabo protokola Complex400_V4_DSP.

Posušeni brisi telesnih tekočin in izločkov

1. Potopite posušeno konico paličice za bris v 750 µl pufra Buffer ATL (ATL) (kat. št. 939016) in inkubirajte 15 minut pri 56 °C ob stalnem mešanju. Če mešanje ni mogoče, vrtinčite najmanj 10 sekund pred in po inkubaciji.
2. Odstranite paličico za bris in iztisnite vso tekočino tako, da pritisnete paličico ob notranjost epruvete.
3. Prenesite najmanj 500 µl vzorca v 2-ml epruveto Sarstedt (kat. št. 72.693 ali 72.694). Obdelajte vzorec s protokolom Complex400_V4_DSP.

Opomba: Ta protokol je optimiziran za bombažne ali polietilenske paličice. Če so uporabljene druge paličice, bo morda potrebno prilagoditi volumen pufra Buffer ATL (ATL) za zagotovitev, da bo za vzorčni material na voljo vsaj 500 µl.

Respiratorni ali urogenitalni brisi

Urogenitalni brisi (v mediju za transport, npr. PreservCyt, UTM, eNAT) in respiratorni brisi (posušene paličice ali v mediju za transport, npr. UTM, eNAT) so lahko shranjeni pri temperaturi 2–8 °C do 6 ur. Za daljše shranjevanje priporočamo zamrzovanje na –20 °C ali –80 °C.

Medije za shranjevanje respiratornih ali urogenitalnih brisov je mogoče uporabiti brez predhodne obdelave. Če paličica ni bila odstranjena, jo pritisnite ob stranico epruvete, da iztisnete tekočino. Morebitno odvečno sluz v vzorcu je treba v tem koraku odstraniti tako, da jo zberete na paličico. Morebitno preostalo tekočino iz sluzi in paličice je nato treba iztisniti tako, da pritisnete paličico ob stranico epruvete. Na koncu je treba paličico in sluz odstraniti in zavreči. Če so vzorci viskozni, opravite korak za utekočinjenje (glejte razdelek »Viscous or mucous samples«), preden prenesete vzorec v QIASymphony SP. Če ni dovolj začetnega materiala, pipetirajte pufer Buffer ATL (ATL) v medij za transport, da prilagodite zahtevani minimalni začetni volumen, in vrtinčite vzorec 15–30 sekund v epruveti (če medij za transport vsebuje paličico, opravite ta korak, preden jo odstranite). Prenesite vzorec v 2-ml epruveto Sarstedt (kat. št. 72.693 ali 72.694) in namestite vzorec v nosilec za epruvete. Alternativno lahko uporabite primarne epruvete. Zahtevani minimalni začetni volumen se lahko razlikuje glede na uporabljeno primarno epruveto. Združljive primarne in sekundarne epruvete, vključno z minimalnim začetnim volumnom, ki je potreben za vsak protokol, so navedene na seznamu laboratorijske opreme, ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com.

Omejitev in moteče snovi

Opazili niso nobenih pomembnih negativnih učinkov potencialno motečih snovi (za podrobnosti glejte ustrezen dokument Performance Characteristics (Značilnosti), ki ga lahko najdete na zavihku z viri na strani izdelka na www.qiagen.com).

Opomba: Testiranje je bilo izvedeno z uporabo vzorčnih nadaljnjih postopkov za oceno kakovosti ekstrahiranih nukleinskih kislin. Vendar lahko imajo različni nadaljnji postopki različne zahteve glede čistosti (tj. odsotnosti potencialno motečih snovi), zato je treba določiti tudi identifikacijo in testiranje relevantnih snovi v okviru razvoja nadaljnjega postopka za vsak potek dela, ki vključuje komplete QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.





Shranjevanje eluatov

Opomba: Stabilnost eluata je močno odvisna od različnih dejavnikov in je povezana s specifičnim nadaljnjim postopkom. Za komplete QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit je bila določena v kombinaciji z vzorčnimi nadaljnjimi postopki. Uporabnik je odgovoren za to, da preveri navodila za uporabo specifičnega nadaljnega postopka, ki se uporablja v njihovem laboratoriju, in/ali validira celoten potek dela in določi ustrezne pogoje shranjevanja.

Za kratkotrajno shranjevanje do 24 ur priporočamo, da shranjujete očiščene nukleinske kisline pri 2–8 °C. Za dolgoročno shranjevanje, ki traja več kot 24 ur, priporočamo shranjevanje pri –20 °C.

Simboli

V tem dokumentu so uporabljeni naslednji simboli. Za celoten seznam simbolov, uporabljenih v navodilih za uporabo ali na embalaži in etiketah, glejte priročnik.

Simbol	Opredeleitev simbola
	Ta izdelek izpolnjuje zahteve Uredbe (EU) 2017/746 za in vitro diagnostične medicinske pripomočke.
	In vitro diagnostični medicinski pripomoček
	Kataloška številka
Rn	R pomeni revizijo navodil za uporabo, n pa številko revizije
	Proizvajalec

Zgodovina revizij

Revizija

Opis

R1, junij 2022

Različica 2, revizija 1

- Posodobitev na različico 2 za zagotovitev skladnosti z Uredbo o in vitro diagnostičnih pripomočkih (In Vitro Diagnostic Medical Devices Regulation, IVDR)
- Razširitev razdelka Preparation of sample material
- Dodajanje razdelka Limitations and interfering substances
- Dodajanje razdelka Storage of eluates
- Dodajanje razdelka Symbols

Posodobljene informacije o licenciranju in zavrnitve odgovornosti za izdelek so na voljo v priročniku ali navodilih za uporabo zadevnega kompleta znamke QIAGEN®. Priročniki in navodila za uporabo kompletov znamke QIAGEN so na voljo na spletni strani www.qiagen.com, lahko pa jih tudi naročite pri tehnični službi družbe QIAGEN ali lokalnem distributerju.

Blagovne znamke: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); PreservCyt® (Hologic, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrirana imena, blagovne znamke itd., ki so uporabljeni v tem dokumentu, ne smejo veljati za nezaščitene z zakonom, tudi če niso izrecno označeni kot takšni.
06/2022 HB-3028-S03-001© 2022 QIAGEN, vse pravice pridržane.