



2022. június

QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Kit használati útmutató (Protokoll lap)

Complex200_OBL_V4_DSP protokoll

2. verzió



In vitro diagnosztikai használatra

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit készlettel való használatra szolgál



937036



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Németország

R1

A protokoll lap elektronikus formátumban áll rendelkezésre, és a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Általános információk

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

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Mintaanyag	Légzőszervi és húgy-ivarszervi minták
Protokoll neve	Complex200_OBL_V4_DSP
Alapértelmezett assay-kontrollkészlet	ACS_Complex200_OBL_V4_DSP
Szerkeszthető	Eluátum térfogata: 60, 85 és 110 µl
Szükséges szoftververzió	4.0-s vagy későbbi verzió
Szükséges szoftverkonfiguráció IVD felhasználáshoz	1. alapértelmezett profil

„Sample” (Minta) fiók

Mintatípus	Vizelet, húgy-ivarszervi kenetek (transzport tápközegben, pl. PreservCyt®, UTM, eNAT™) és légzőszervi kenetek (száritott kenetek vagy transzport tápközegben, pl. UTM, eNAT)
Mintatérfogat	Az alkalmazott mintacső típusától függ; további információkat lásd a laboreszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Feldolgozott mintatérfogat	További információkat lásd a laboreszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Elsődleges mintacsövek	További információkat lásd a laboreszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Másodlagos mintacsövek	Az alkalmazott mintacső típusától függ; további információkat lásd a laboreszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Inzertek	Az alkalmazott mintacső típusától függ; további információkat lásd a laboreszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.
Egyéb	Hordozó RNS-Buffer AVE keverék szükséges; a belső kontroll alkalmazása opcionális

„Reagents and Consumables” (Reagensek és fogyóeszközök) fiók

A1 és/vagy A2 pozíció	Reagenskazetta (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-Rod Covers tartalmú egységdobozok

n.a. = nem alkalmazható.

„Waste” (Hulladék) fiók

1–4. számú egységdoboz-tartó	Üres egységdobozok
Hulladékgyűjtő zsák tartója	Hulladékgyűjtő zsák
Folyékonyhulladék-gyűjtő palack tartója	Folyékonyhulladék-palack

„Eluate” (Eluátum) fiók

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

További információkat lásd a laborszakozók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Szükséges műanyag eszközök

Műanyag eszköz	Egy köteg 24 minta*	Két köteg 48 minta*	Három köteg 72 minta*	Négy köteg 96 minta*
Disposable filter-tips, 200 µl [†]	96	96	128	128
Disposable filter-tips, 1500 µl ^{††}	128	192	224	288
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Egnél több leltárellenőrzés elvégzéséhez további egyszer használatos szűrővel rendelkező hegyekre van szükség. 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.

^{††} Szűrős pipettahegyek száma reagenskazettánként, az 1 leltárellenőrzéshez szükséges szűrővel ellátott hegyeket is beleszámítva.

[§] Egy egységdoboz 28 minta-előkészítő kazettát tartalmaz.

[¶] Egy egységdoboz tizenkét 8-Rod Covers 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 az előre megválasztott térfogattal.

A belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – Buffer AVE (AVE) keverék elkészítése

Kiválasztott elúciós térfogat (µl)	Hordozó RNS (CARRIER) törzsoldat térfogata (µl)	Belső kontroll térfogata (µl)*	Buffer AVE (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 az alkalmazott mintacső típusától függ; további információkat lásd a laborszakozók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

Megjegyzés: A táblázatban feltüntetett értékek a mikroliterenként 0,1 µl belső kontrollt tartalmazó eluátumot igénylő downstream assayhoz használt belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) keverék elkészítéséhez használhatók.

A készüléken kívüli lízis

A vegyszerekkel végzett munka során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheets, SDS-ek) tartalmaznak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

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 Complex200_OBL_V4_DSP protokoll a manuális lízis elvégzését hasonló módon teszi lehetővé, mint a Complex200_V6_DSP protokoll. Az előkezelt mintákat a rendszer átviszi a QIASymphony SP készülékre, és a Complex200_OBL_V4_DSP protokollal feldolgozza.

Megjegyzés: A Complex200_OBL_V4 protokollhoz Buffer ACL és Buffer ATL (ATL) szükséges. A Buffer ACL (katalógusszám: 939017) és Buffer ATL (ATL) (katalógusszám: 939016) nem képezi a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit részét, és ezeket külön kell megrendelni.

Manuális lízis

1. Pipetázzon 20 µl proteináz K-t, 100 µl Buffer ATL-t (ATL), 120 µl hordozó RNS – belsőkontroll-keveréket, valamint 190 µl Buffer ACL-t egy 2 ml-es Sarstedt® csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694).

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 430 µl-t egy 2 ml-es Sarstedt 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 200 µl mintát a csőhöz, zárja le a fedelet, és vortexelje impulzus módban 10 másodpercig.
5. Inkubálja a csöveket 68 °C-on 15 percig.
6. A fedél belsején lévő cseppek eltávolításához rövid ideig centrifugálja a csövet.
7. Helyezze a megfelelő mintacsövekhez tartozó inzerteket egy csőtartóba, és töltsé be a mintacsöveket (fedél nélkül).

A mintaanyag előkészítése

Kerülje a habképződést a mintákban vagy a mintákon. A kiindulási anyagtól függően szükség lehet a minta előkezelésére. A futtatás megkezdése előtt hagyni kell szobahőmérsékletűre (15–25 °C) melegedni a mintákat.

Megjegyzés: A minta stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. Meghatározását a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kitek esetében példa downstream alkalmazásokkal végezték el. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

Az általános mintagyűjtési, szállítási és tárolási ajánlásokért lásd a jóváhagyott CLSI irányelvet, MM13-A „Minták gyűjtése, szállítása, előkészítése és tárolása molekuláris módszerekhez”. Továbbá, a minta előkészítése, tárolása, szállítása és általános kezelése során be kell tartani a kiválasztott mintavételi eszköz/készlet gyártójának utasításait.

Vizelet

A vizelet 2–8 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 6 óráig tárolható. Hosszú távú tárolás esetén javasoljuk a –20 °C-on vagy –80 °C-on történő fagyasztást. A vizelet további előkezelés nélkül feldolgozható. A rendszer tartósítószer nem tartalmazó, tiszta vizeletmintákra van optimalizálva. A bakteriális kórokozók iránti érzékenység fokozása érdekében a minták centrifugálhatók. A felülúszó eltávolítását követően a pellet legalább 200 µl Buffer ATL-ben (ATL) (katalógusszám: 939016) reszuszpendálható. A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 200 µl előkezelt mintát.

Genomikus DNS izolálása Gram-pozitív baktériumokból

A DNS-tisztítás egyes Gram-pozitív baktériumok esetében a minta a QIA Symphony SP készülékbe történő átvitele és a Complex200_OBL_V4_DSP protokoll elindítása előtt enzimatis elökezeléssel javítható.

1. 10 percen keresztül 5000 x *g*-vel végzett centrifugálással szemcsésítse a baktériumokat.
2. Oldja fel a bakteriális pelletet 200 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.
4. A fedél belsején lévő cseppek eltávolításához rövid ideig centrifugálja a csövet.
5. A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 200 µl előkezelt mintát.

Viszkózus vagy nyákos minták

Egyes minták 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 0,3%-os (w/v) ditiotreitollal (DTT).
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. A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 200 µl előkezelt mintát.

Szárfított testnedv- és váladékkenetek

1. Merítse a pálcá megszárfított végét 450 µl Buffer ATL-be (ATL) (katalógusszám: 939016) és folyamatos keverés mellett inkubálja 56 °C-on 15 percig. 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 200 µl előkezelt mintát.
Megjegyzés: A protokoll pamut és polietilén pálcákra lett optimalizálva. Más pálcák alkalmazása esetén szükség lehet a Buffer ATL (ATL) térfogatának módosítására, hogy mintaanyagként legalább 200 µl álljon rendelkezésre.

Légzőszervi és húgy-ivarszervi kenetek

A húgy-ivarszervi kenetek (transzport tápközegben, pl. PreservCyt, UTM, eNAT) és légzőszervi kenetek (szárított kenetek vagy transzport tápközegben, pl. UTM, eNAT) 2–8 °C-on legfeljebb 6 óráig tárolhatók. Hosszú távú tárolás esetén javasoljuk a –20 °C-on vagy –80 °C-on történő fagyasztást.

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 kiperéseléséhez. 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 nyákokat el kell távolítani és ki kell dobni. Viszkózus minta esetén végezzen el egy cseppfolyósító lépést (lásd a „Viszkózus vagy nyákos minták” című részt), mielőtt átvinné a mintát a QIASymphony SP készülékre. Ha nincs elegendő kiinduló anyag, pipettázzon Buffer ATL-t (ATL) a transzport tápközegbe a szükséges minimális kiindulási térfogat beállításához, és vortexelje a mintát 15–30 másodpercig a csőben (amennyiben a transzport tápközegben benne van a pálca, akkor ezt a lépést a pálca eltávolítása előtt végezze el). A készüléken kívüli lízis előkészítéséhez mintaként használjon 200 µl mintát.

Korlátozások és zavaró anyagok

Nem figyeltek meg jelentős negatív hatást a potenciálisan zavaró anyagok esetében (a részletekért lásd a megfelelő Teljesítményjellemzők című dokumentumot, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el).

Megjegyzés: A vizsgálatot példa downstream alkalmazásokkal végezték az extrahált nukleinsavak minőségének értékelése érdekében. Azonban az eltérő downstream alkalmazásokhoz eltérő tisztaságra lehet szükség (pl. a potenciálisan zavaró anyagok hiánya), ezért az adott anyagok azonosítása és vizsgálata szükséges a downstream alkalmazás kidolgozása során, a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kitet alkalmazó munkafolyamatok esetében.






Az eluátumok tárolása

Megjegyzés: Az eluátum stabilitása nagymértékben függ különböző tényezőktől, és az adott downstream alkalmazáshoz kapcsolódik. Meghatározását a QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kitek esetében példa downstream alkalmazásokkal végezték el. A felhasználó felelőssége a laboratóriumban alkalmazott specifikus downstream alkalmazás használati útmutatójának tanulmányozása és/vagy a teljes munkafolyamat validálása a megfelelő tárolási feltételek megállapítása érdekében.

Rövid távú tároláshoz (maximum 24 órára) a tisztított nukleinsavakat 2–8 °C-on javasoljuk tárolni. Hosszú távú tároláshoz (24 órán túl) –20 °C-on való tárolást javasolunk.

Szimbólumok

A dokumentumban az alábbi szimbólumok szerepelnek. A használati útmutatóban vagy a csomagoláson és címkéken használt szimbólumok teljes listáját lásd a kézikönyvben.

Szimbólum	A szimbólum meghatározása
	Ez a termék megfelel az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökre vonatkozó 2017/746 számú európai rendelet követelményeinek.
	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Katalógusszám
Rn	Az R a Használati útmutató átdolgozását, az n pedig az átdolgozás számát jelöli
	Hőmérsékleti korlátozás
	Gyártó

Átdolgozási előzmények

Átdolgozás

R1, 2022. június

Leírás

2. verzió, 1. átdolgozás

- Frissítés a 2. verzióra az IVDR megfeleléshez
- A A mintaanyag előkészítése című rész kiegészítése
- A Korlátozások és zavaró anyagok című rész hozzáadása
- A Az eluátumok tárolása című rész hozzáadása
- A Szimbólumok című rész hozzáadása

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 kézikönyvei a www.qiagen.com webhelyen érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); PreservCyt® (Hologic, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvény védelméen kívül esőnek, ha nincsenek külön jelöléssel ellátva.
06/2022 HB-3028-S02-001© 2022 QIAGEN, minden jog fenntartva.