

Návod na použitie (Protokolový list) súpravy QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit

Protokol Complex200_OBL_V4_DSP

Verzia 2



Na diagnostické použitie in vitro

Na použitie so súpravou QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit



937036



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Nemecko

R1

Protokolový list je dostupný elektronicky a nájdete ho v karte zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com.

Všeobecné informácie

Súprava QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit je určená na diagnostické použitie in vitro.

Súprava	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Materiál vzorky	Respiračné a urogenitálne vzorky
Názov protokolu	Complex200_OBL_V4_DSP
Predvolená kontrolná testovacia súprava	ACS_Complex200_OBL_V4_DSP
Upraviteľné	Objem eluátu: 60, 85 a 110 µl
Požadovaná verzia softvéru	Verzia 4.0 alebo vyššia
Požadovaná konfigurácia softvéru na IVD použitie	Predvolený profil 1

Zásuvka „Sample“ (Vzorka)

Typ vzorky	Moč, urogenitálne tampóny (v transportnom médiu, napr. PreservCyt®, UTM, eNAT™) a respiračné tampóny (vysušené tampóny alebo v transportnom médiu, napr. UTM, eNAT)
Objem vzorky	Závisí od typu použitej skúmavky na vzorky, ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý nájdete v karte zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com
Objem spracovanej vzorky	Ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com
Primárne skúmavky na vzorky	Ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com
Sekundárne skúmavky na vzorky	Závisí od typu použitej skúmavky na vzorky, ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý nájdete v karte zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com
Vložky	Závisí od typu použitej skúmavky na vzorky, ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý nájdete v karte zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com
Iné	Potrebná je zmes nosič RNA pufer Buffer AVE, použitie internej kontroly je voliteľné

Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotrebný materiál)

Pozícia A1 a/alebo A2	Reagenčná kazeta (Reagent cartridge, RC)
Pozícia B1	N/A
Držiak stojana na špičky 1 – 17	Jednorazové filtrovacie špičky, 200 µl
Držiak stojana na špičky 1 – 17	Jednorazové filtrovacie špičky, 1500 µl
Držiak škatulky jednotky 1 – 4	Škatulky jednotky obsahujúce kazety na prípravu vzoriek
Držiak škatulky jednotky 1 – 4	Škatulky jednotky obsahujúce kryty 8-Rod Covers

N/A = Neaplikovateľné.

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držiak škatulky jednotky 1 – 4	Prázdne škatulky jednotky
Držiak odpadového vrečka	Odpadové vrečko
Držiak nádoby na tekutý odpad	Nádoba na tekutý odpad

Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Elučný stojan (odporúčame použiť slot 1, pozíciu chladenia)

Ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com.

Požadované plastové vybavenie

Plastové vybavenie	Jedna dávka 24 vzoriek*	Dve dávky 48 vzoriek*	Tri dávky 72 vzoriek*	Štyri dávky 96 vzoriek*
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

* Vykonanie viac než jedného inventárneho skenu si vyžaduje doplnkové jednorazové filtračné špičky. Použitie menej než 24 vzoriek na dávku znižuje počet jednorazových filtračných špičiek potrebných na sériu analýz.

[†] V stojane na špičky je 32 filtračných špičiek.

[‡] Počet potrebných filtračných špičiek zahŕňa filtračné špičky pre 1 inventárny sken na RC.

[§] V škatuľke jednotky je 28 kaziet s preparátmi vzoriek.

[¶] V škatuľke jednotky je dvanásť krytov 8-Rod Covers.

Poznámka: Počet daných filtračných špičiek sa môže líšiť od počtov zobrazených na dotykovej obrazovke v závislosti od nastavení, napríklad od počtu interných kontrol použitých na jednu dávku.

Zvolený elučný objem

Zvolený elučný objem (µl)*	Počiatočný elučný objem (µl) [†]
60	90
85	115
110	140

* Elučný objem sa volí na dotykovej obrazovke. Toto je minimálny dostupný objem eluátu vo výslednej elučnej skúmavke.

[†] Počiatočný objem elučného roztoku potrebný na zabezpečenie, aby bol skutočný objem eluátu rovnaký ako zvolený objem.

Príprava zmesi interná kontrola – nosič RNA (CARRIER) – pufer Buffer AVE (AVE)

Zvolený elučný objem (µl)	Objem nosiča RNA (CARRIER) (µl)	Objem internej kontroly (µl)*	Objem pufru Buffer AVE (AVE) (µl)	Výsledný objem na vzorku (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Výpočet množstva internej kontroly je založený na počiatočných objemoch elúcie. Doplnujúci prázdny objem závisí od typu používanej skúmavky na vzorky, ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobu na adrese www.qiagen.com.

Poznámka: Hodnoty zobrazené v tabuľke sa vzťahujú k príprave zmesi interná kontrola – nosič RNA (CARRIER) pre test proti smeru reťazca, ktorá si vyžaduje 0,1 µl internej kontroly/µl eluátu.

Externá lýza

Počas práce s chemikáliami noste vždy vhodný laboratórny plášť, jednorazové rukavice a ochranné okuliare. Viac informácií nájdete v príslušných kartách bezpečnostných údajov (KBÚ), ktoré sú k dispozícii u dodávateľa produktov.

Protokoly Complex QIASymphony pozostávajú zo 4 krokov: lýza, viazanie, premytie, elúcia. U niektorých vzoriek je užitočné vykonať lýzu manuálne, napríklad na inaktiváciu patogénov v biologicky bezpečnej pracovni. Protokol Complex200_OBL_V4_DSP umožňuje vykonanie manuálnej lýzy podobným spôsobom ako v prípade protokolu Complex200_V6_DSP. Vzorky s predbežnou úpravou sú prenesené do QIASymphony SP a spracované protokolom Complex200_OBL_V4_DSP.

Poznámka: Protokol Complex200_OBL_V4 vyžaduje pufer Buffer ACL a pufer Buffer ATL (ATL). Pufer Buffer ACL (kat. č. 939017) a pufer Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016) nie sú súčasťou súpravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit a musia sa objednať samostatne.

Manuálna lýza

1. Napipetujte 20 µl proteinázy K, 100 µl pufru Buffer ATL (ATL), 120 µl Carrier RNA Internal Control Mixture (zmesi internej kontroly a nosiča RNA) a 190 µl pufru Buffer ACL do 2 ml skúmavky Sarstedt® (kat. č. 72.693 alebo 72.694).

Poznámka: Keď sa manuálnou lýzou bude spracovávať viac než jedna vzorka, môže sa pripraviť zásobný roztok tohto roztoku. Jednoducho vynásobte objemy potrebné pre jednu vzorku celkovým počtom vzoriek, ktoré sa majú spracovať, a pridajte doplnkový objem rovný 2 vzorkám navyše. Skúmavku niekoľkokrát obráťte, aby sa jej obsah premiešal, preneste 430 µl do 2 ml skúmavky Sarstedt pre každú vzorku, potom pokračujte pre každú vzorku krokom 4.

2. Zatvorte viečko a obrátením skúmavky 5-krát zamiešajte obsah.
3. Skúmavku krátko odstredte, aby sa odstránili kvapky zvnútra viečka.
4. Do skúmavky pridajte 200 µl vzorky, zatvorte viečko a miešajte pulzným vortexom 10 s.
5. Inkubujte skúmavku pri teplote 68 °C v priebehu 15 min.
6. Skúmavku krátko odstredte, aby sa odstránili kvapky zvnútra viečka.
7. Vložky pre príslušné skúmavky so vzorkami zasuňte do nosiča skúmaviek a vložte skúmavky so vzorkami (bez viečok).

Príprava materiálu vzorky

Zabráňte tvorbe peny vo vzorkách alebo na nich. V závislosti od východiskového materiálu môže byť potrebné predbežné ošetrenie vzorky. Vzorky musia byť pred začiatkom testu ekvilibrované na izbovú teplotu (15 – 25 °C).

Poznámka: Stabilita vzorky výrazne závisí od rôznych faktorov a týka sa špecifickej následnej aplikácie. Bola stanovená pre súpravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit spolu so vzorovými následnými aplikáciami. Používateľ je zodpovedný za dodržiavanie návodu na použitie konkrétnej následnej aplikácie používanej v jeho laboratóriu a/alebo za overenie celého pracovného postupu na vytvorenie vhodných podmienok skladovania.

Všeobecné odporúčania týkajúce sa získavania, prepravy a skladovania nájdete v schválenom usmernení CLSI MM13-A „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods“ (Odber, preprava, príprava a skladovanie vzoriek pre molekulárne metódy). Okrem toho je počas prípravy, skladovania a prepravy vzoriek a všeobecnej manipulácie s nimi potrebné dodržiavať pokyny výrobcu pre vybranú pomôcku/súpravu na získavanie vzoriek.

Moč

Moč sa môže skladovať pri teplote 2 – 8 °C až 6 hodín. Na dlhšie skladovanie odporúčame zmrazenie na teplotu -20 °C alebo -80 °C. Moč sa môže spracovávať bez predbežnej úpravy. Systém je optimalizovaný pre čisté vzorky moču, ktoré neobsahujú konzervačné látky. Na zvýšenie citlivosti na patogénne baktérie možno vzorky odstrediť. Po likvidácii supernatantu sa dá granula opäť suspendovať v min. 200 µl pufru Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016). Ako vzorku na prípravu externej lýzy použite 200 µl vopred upraveného materiálu.

Izolácia genomickej DNA z gram-pozitívnej baktérie

Purifikácia DNA sa dá pre niektoré gram-pozitívne baktérie zlepšiť enzymatickou predbežnou úpravou pred prenosom vzorky do QIAasymphony SP a spustením protokolu Complex200_OBL_V4_DSP.

1. Odstredujte baktériu pri 5 000 x g v priebehu 10 min.
2. Bakteriálnu granulu suspendujte v 200 µl vhodného enzymatického roztoku (lyzozým 20 mg/ml alebo lyzostafín 200 µg/ml v 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % Triton X-100).
3. Inkubujte pri teplote 37 °C najmenej 30 min.
4. Krátko skúmavku odstredte, aby sa odstránili kvapky zvnútra viečka.
5. Ako vzorku na prípravu externej lýzy použite 200 µl vopred upraveného materiálu.

Viskózne alebo mukózne vzorky

Niektoré vzorky môžu byť viskózne a aby ich bolo možné pipetovať, vyžadujú si skvapalnenie. Vzorky s nízkou viskozitou si nevyžadujú ďalšiu prípravu. Vzorky so strednou až vysokou viskozitou sa majú pripravovať nasledovne:

1. Zriedte vzorku v pomere 1 : 1 s 0,3 % (hmot./obj.) ditiotreitólom (DTT).
Poznámka: Roztok 0,3 % (obj. hm.) DTT sa dá vytvoriť vopred a uskladniť v alikvótach pri teplote -20 °C. Po použití rozmrazené alikvóty zlikvidujte.
2. Inkubujte pri teplote 37 °C, kým nie je viskozita vzorky vhodná na pipetovanie.
3. Ako vzorku na prípravu externej lýzy použite 200 µl vopred upraveného materiálu.

Vysušené tampóny s telesnou tekutinou a sekrétom

1. Ponorte konček vysušeného tampónu do 450 µl pufru Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016) a inkubujte za stáleho miešania pri teplote 56 °C počas 15 min. Ak miešanie nie je možné, pred inkubáciou a po nej vírivo premiešavajte aspoň 10 s.
2. Tampón vyberte a odstráňte všetku kvapalinu pritlačením tampónu o vnútornú stenu skúmavky.
3. Ako vzorku na prípravu externej lýzy použite 200 µl vopred upraveného materiálu.

Poznámka: Tento protokol je optimalizovaný pre bavlnené a polyetylénové tampóny. Pri použití iných tampónov môže byť potrebné upraviť objem pufru Buffer ATL (ATL), aby bol zabezpečený objem materiálu na vzorky aspoň 200 µl.

Respiračné alebo urogenitálne tampóny

Urogenitálne tampóny (v transportnom médiu, napr. PreservCyt, UTM, eNAT) a respiračné tampóny (vysušené tampóny alebo v transportnom médiu, napr. UTM, eNAT) možno skladovať pri teplote 2 – 8 °C najviac 6 hodín. Na dlhšie skladovanie odporúčame zmrazenie na teplotu -20 °C alebo -80 °C.

Skladovacie médiá pre respiračné alebo urogenitálne tampóny sa dajú použiť bez predbežnej úpravy. Ak ste tampón nevybrali, odstráňte kvapalinu pritlačením tampónu o stenu skúmavky. Teraz by sa mal odstrániť všetok nadbytočný hlien vo vzorke jeho zachytením na tampón. Všetku zvyškovú kvapalinu z hlienu a tampónu treba následne vytlačiť pritlačením tampónu o stenu skúmavky. Nakoniec treba tampón s hlienom odstrániť a zlikvidovať. Ak sú vzorky viskózne, vykonajte krok skvapalnenia (pozri časť „Viskózne alebo mukózne vzorky“ (Viskózne alebo mukózne vzorky) vyššie) pred prenosom vzorky do QIASymphony SP. Ak k dispozícii nie je dostatok počiatočného materiálu, napipetujte pufer Buffer ATL (ATL) do transportného média, aby ste prispôbili minimálny počiatočný objem, a vírivo premiešavajte vzorku v skúmavke v priebehu 15 – 30 sekúnd (ak transportné médium obsahuje tampón, tento krok vykonajte pred odstránením tampónu). Ako vzorku na prípravu externej lýzy použite 200 µl vopred upraveného materiálu.

Obmedzenia a interferujúce látky

Nebol pozorovaný žiaden významný negatívny vplyv potenciálnych interferujúcich látok (podrobné informácie nájdete v platnom dokumente Charakteristiky účinnosti, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobku na adrese www.qiagen.com).

Poznámka: Testovanie bolo vykonané pomocou vzorových následných aplikácií na hodnotenie kvality extrahovaných nukleových kyselín. Rôzne následné aplikácie však môžu mať rôzne požiadavky na čistotu (t. j. neprítomnosť potenciálnych interferujúcich látok), preto je v rámci vývoja následnej aplikácie pre akýkoľvek pracovný postup so súpravami QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit potrebné zároveň určiť a otestovať príslušné látky.






Skladovanie eluátov

Poznámka: Stabilita eluátu výrazne závisí od rôznych faktorov a týka sa konkrétnej následnej aplikácie. Bola stanovená pre súpravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit spolu so vzorovými následnými aplikáciami. Používateľ je zodpovedný za dodržiavanie návodu na použitie konkrétnej následnej aplikácie používanej v jeho laboratóriu a/alebo za overenie celého pracovného postupu na vytvorenie vhodných podmienok skladovania.

Pre krátkodobé skladovanie do 24 hodín purifikované nukleové kyseliny odporúčame skladovať pri teplote 2 – 8 °C. Pri dlhodobom skladovaní dlhšom ako 24 hodín, odporúčame skladovať pri teplote -20 °C.

Symboly

V tomto dokumente sú uvedené nasledujúce symboly. Úplný zoznam symbolov používaných v návode na použitie alebo na balení a štítkoch je uvedený v príručke.

Symbol	Definícia symbolu
	Tento výrobok spĺňa požiadavky európskeho nariadenia 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro.
	Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro
	Katalógové číslo
Rn	R označuje revíziu návodu na použitie a n je číslo revízie
	Teplotné obmedzenia
	Výrobca

História revízií

Revízia	Popis
R1, jún 2022	Verzia 2, revízia 1 <ul style="list-style-type: none">• Aktualizácia verzie 2 na účely súladu s nariadením IVDR• Rozšírenie časti Príprava materiálu vzorky• Pridanie časti Obmedzenia a interferujúce látky• Pridanie časti Skladovanie eluátov• Pridanie časti Symboly

Aktuálne licenčné informácie a právne informácie špecifické pre daný produkt nájdete v sprievodcovi alebo používateľskej príručke k súprave QIAGEN®. Sprievodcov a používateľské príručky k súpravám QIAGEN nájdete na lokalite www.qiagen.com alebo o ne môžete požiadať oddelenie technických služieb spoločnosti QIAGEN alebo svojho miestneho distribútora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (skupina QIAGEN), eNAT™ (Copan Italia S.P.A.), PreservCyt® (Hologic, Inc.), Sarstedt® (Sarstedt AG a spol.). Registrované názvy, ochranné známky atď. použité v tomto dokumente sa nesmú považovať za známky nechránené podľa zákona, i keď neboli ako také označené príslušným symbolom.
06/2022 HB-3028-S02-001© 2022 QIAGEN, všetky práva vyhradené.