



2022. június

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

Complex800_V6_DSP protokoll

2. verzió



In vitro diagnosztikai használatra

QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit készlettel való használatra szolgál



937055



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 Midi Kit |
| Mintaanyag | Légzőszervi és húgy-ivarszervi minták |
| Protokoll neve | Complex800_V6_DSP |
| Alapértelmezett assay-kontrollkészlet | ACS_Complex800_V6_DSP_default_IC |
| 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 (szárított kenetek vagy transzport tápközegben, pl. UTM, eNAT) |
| Mintatérfogató | Az alkalmazott mintacső típusától függ; további információkat lásd a labor eszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el. |
| Feldolgozott mintatérfogató | További információkat lásd a labor eszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el. |
| Elsődleges mintacsövek | További információkat lásd a labor eszközök 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 labor eszközök 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 labor eszközök 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 | Buffer ATL (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-Rod Covers tartalmú egységdobozok |

„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 ^{††} | 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 |

* 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, 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 függvényében a szűrővel rendelkező hegyek megadott száma eltérhet az érintőképernyőn megjelenített számoktól. A lehető legnagyobb számú hegy betöltését javasoljuk.

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 holttérfogat 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 assayhez használt belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) keverék elkészítéséhez használhatók.

A belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – Buffer AVE (AVE) keveréket tartalmazó csövek csőtartóba kerülnek. A belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – Buffer AVE (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 x 100 mm méretű polisztirol, lekerekített aljú csövek (BD™, 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

| Csőtípus | QIASymphony érintőképernyőn megjelenő név | A belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – Buffer AVE (AVE) keverék térfogatának kiszámítása csövenként |
|---|---|---|
| Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted, (Sarstedt, katalógusszám: 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, katalógusszám: 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§, 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) – Buffer AVE (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 csőbe 1,9 ml-nél nagyobb mennyiséget (azaz csövenként legfeljebb 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) – Buffer AVE (AVE) keverék szükséges térfogatának kiszámításához (n = a minták száma; $120 \mu\text{l}$ = a belső kontroll – hordozó RNS (CARRIER) – Buffer AVE (AVE) keverék térfogata; $600 \mu\text{l}$ = csövenként szükséges holtterefogat). 96 minta esetén például ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12\,120 \mu\text{l}$.

§ A BD volt ennek a csőnek a korábbi gyártója, jelenleg a Corning, Inc. az új gyártó.

A szükséges inzertereket lásd a laboreshozók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

FIX laboreshozók használata

A folyadékszint-észlelés (Liquid-Level Detection, LLD) alkalmazása a minta átvitele során lehetővé teszi elsődleges és másodlagos csövek használatát. Ez azonban bizonyos holtterefogatokat igényel az egyes csövekben. A holtterefogat minimalizálása érdekében másodlagos csöveket kell használni folyadékszint-észlelés nélkül. Speciális FIX laboreshozók 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 csőben. Ennél fogva elengedhetetlenül fontos, hogy mindenképp a laboreshozók listájában szereplő térfogatokat alkalmazzák. A laboreshozók listája a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

A folyadékszint-észleléssel és anélkül is használható mintacsöveket, valamint a szükséges mintatérfigatokat a laboreshozók listája tartalmazza, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el. Ne használjon a szükséges térfogatnál nagyobb vagy kisebb térfogatokat, 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

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) tartalmazznak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

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. 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 csőtípusokat, valamint az egyes protokollokhoz szükséges kezdőtérfogatot lásd a laboreszközök listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el. 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 800 µl Buffer ATL-ben (ATL) (katalógusszám: 939016) reszuszpendálható. Vigye át a mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Helyezze a csövet a csőtartóba, és a Complex800_V6_DSP protokollal, valamint a szükséges FIX laboreszközökkel 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 Complex800_V4_DSP protokoll elindítása előtt enzimatiszta előkezeléssel javítható.

1. 10 percen keresztül 5000 x g-vel végzett centrifugálással szemcsésítse a baktériumokat.
2. Oldja fel a bakteriális pelletet 900 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. Vigye át a mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694), helyezze a mintát a csőtartóba, és folytassa a Complex800_V6_DSP protokollal, valamint a szükséges FIX laboreszközökkel.

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 DTT oldat elkészíthető előre, és megfelelő alikvotokban -20 °C -on tárolható. A kiolvasztott alikvotot használat után ki kell dobni.

2. Inkubálja 37 °C -on mindaddig, amíg a minta viszkozitása pipettázásra alkalmassá válik.
3. Vigyen át legalább 900 μl mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Complex800_V6_DSP protokoll alkalmazásával dolgozza fel a mintát.

Szártott testnedv- és váladékkenetek

1. Merítse a pálcá megszártott végét 1150 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. Vigyen át legalább 900 μl mintát egy 2 ml-es Sarstedt csőbe (katalógusszám: 72.693 vagy 72.694). Complex800_V6_DSP protokoll alkalmazásával dolgozza fel a 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 900 μl álljon rendelkezésre.

Légzőszervi és húgy-ivarszervi kenetek

A húgy-ivarszervi kenetek (transzport tápközegben, pl. PreservCyt, UTM, eNAT) és légzőszervi kenetek (szártott kenetek vagy transzport tápközegben, pl. UTM, eNAT) $2-8\text{ °C}$ -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 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 „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 pálcá, akkor ezt a lépést a pálcá 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 csöveket, valamint az egyes protokollokhoz szükséges kezdőtérfogatot lásd a laboreshozók listáján, amely a www.qiagen.com weboldalon az adott termék oldalának termékdokumentációs lapján érhető el.

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 |
|  | 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); BD™ (Becton Dickinson and Company); 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 védelmén kívül esőnek, ha nincsenek külön jelöléssel ellátva.
06/2022 HB-3028-S05-001© 2022 QIAGEN, minden jog fenntartva.