



Červen 2022

# Návod k použití soupravy QIASymphony<sup>®</sup> DSP Virus/Pathogen Kit (list protokolu)

Protokol Cellfree500\_V5\_DSP

Verze 2



Pro diagnostické použití in vitro

Pro použití se soupravou QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit



937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Německo

R1

List protokolu je k dispozici elektronicky a lze je nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Všeobecné informace

Souprava QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit je určena pro diagnostické účely in vitro.

<b>Sada</b>	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
<b>Materiál alikvotu</b>	Plazma sérum a CSF
<b>Název protokolu</b>	Cellfree500_V5_DSP
<b>Výchozí kontrolní sada analýzy</b>	ACS_Cellfree500_V5_DSP_default_IC
<b>Editovatelné</b>	Objem eluátu: 60, 85 a 110 µl
<b>Vyžadovaná verze softwaru</b>	Verze 4.0 nebo vyšší
<b>Požadovaná konfigurace softwaru pro použití IVD</b>	Výchozí profil 1

## Zásuvka „Sample“ (Alikvot)

<b>Typ alikvotu</b>	Plazma sérum a CSF
<b>Objem alikvotu</b>	Závisí na typu použité zkumavky na alikvoty; další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Objem zpracovaného alikvotu</b>	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Odběrové zkumavky alikvotu</b>	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Zkumavky sekundárního alikvotu</b>	Závisí na typu použité zkumavky na alikvoty; další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Vložky</b>	Závisí na typu použité zkumavky na alikvoty; další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Jiné</b>	Nutná je směs nosiče RNA a pufru Buffer AVE; použití interní kontroly je volitelné

## Zásuvka „Reagents and Consumables“ (Reagencie a spotřební materiál)

<b>Pozice A1 a/nebo A2</b>	Kazeta s reagenty (Reagent cartridge, RC)
<b>Poloha B1</b>	–
<b>Držák se stojánkem pro špičky 1–17</b>	Filtrační špičky k jednorázovému použití, 200 µl
<b>Držák se stojánkem pro špičky 1–17</b>	Filtrační špičky k jednorázovému použití, 1500 µl
<b>Držák jednotkové krabice 1–4</b>	Jednotkové krabice obsahující zásobníky na přípravu alikvotů
<b>Držák jednotkové krabice 1–4</b>	Jednotkové krabice obsahující 8-Rod Covers

– = neuvedeno.

## Zásuvka „Waste“ (Odpad)

<b>Držák jednotkové krabice 1–4</b>	Prázdňé jednotkové krabice
<b>Držák odpadních sáčků</b>	Odpadní sáček
<b>Držák nádoby na tekutý odpad</b>	Nádoba na tekutý odpad

## Zásuvka „Eluate“ (Eluát)

Eluční stojánek (doporučujeme použít chladicí pozici, slot 1)

Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Požadované plastové vybavení

Plastové vybavení	Jedna šarže 24 alikvotů*	Dvě šarže 48 alikvotů*	Tři šarže 72 alikvotů*	Čtyři šarže 96 alikvotů*
Disposable filter-tips, 200 µl <sup>†‡</sup>	32	56	80	104
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>†‡</sup>	109	198	297	386
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	21	42	63	84
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Užití více než jedné interní kontroly na jednu sadu a provedení více než jednoho inventárního skenu vyžaduje dodatečné jednorázové špičky s filtrem. Použití méně než 24 alikvotů na šarži snižuje počet filtračních špiček k jednorázovému použití požadovaných na jeden cyklus.

<sup>†</sup> Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

<sup>‡</sup> Počet požadovaných špiček s filtrem zahrnuje špičky s filtrem pro 1 kontrolu inventáře na jednu RC.

<sup>§</sup> V jednotkové krabici je 28 kazet pro přípravu alikvotů.

<sup>¶</sup> V jednotkové krabici je dvanáct 8-Rod Covers.

**Poznámka:** Udávaný počet špiček s filtrem se v závislosti na nastaveních od počtu zobrazeného na dotykové obrazovce liší. Doporučujeme načíst maximální možný počet špiček.

## Zvolený eluční objem

Zvolený eluční objem (µl)*	Původní eluční objem (µl) <sup>†</sup>
60	90
85	115
110	140

\* Eluční objem se vybírá na dotykové obrazovce. Toto je minimální dosažitelné množství eluátu ve výsledné eluční zkumavce.

<sup>†</sup> Původní objem elučního roztoku je vyžadován, aby bylo zajištěno, že skutečný objem eluátu odpovídá zvolenému objemu.

## Příprava směsi interní kontroly – nosiče RNA (CARRIER) – Buffer AVE (AVE)

Zvolený eluční objem (µl)	Objem základní nosičové RNA (CARRIER) (µl)	Objem interní kontroly (µl)*	Objem pufru Buffer AVE (AVE) (µl)	Konečný objem na alikvot (µl)
60	5	9	106	120
85	5	11,5	103,5	120
110	5	14	101	120

\* Výpočet množství interní kontroly se zakládá na výchozích elučních objemech. Dodatečný mezerový objem závisí na typu použité zkumavky na alikvoty; další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

**Poznámka:** Hodnoty uvedené v tabulce jsou pro přípravu směsi interní kontroly – nosičové RNA (CARRIER) pro následnou analýzu, který vyžaduje 0,1 µl interní kontroly/µl eluátu.

Zkumavky obsahující směs interní kontroly, nosičové RNA (CARRIER) a pufru Buffer AVE (AVE) jsou umístěny v nosiči zkumavek. Nosič zkumavek obsahující směs(i) interní kontroly, nosičové RNA (CARRIER) a pufru Buffer AVE (AVE) musí být umístěn do drážky A zásuvky pro alikvoty.

Podle počtu alikvotů, které se budou zpracovávat, doporučujeme na ředění interní kontroly použít 2ml zkumavky (Sarstedt®, kat. č. 72.693 nebo 72.694) nebo 14ml polystyrénové zkumavky s kulatým dnem o velikosti 17 × 100 mm (Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, BD™, kat. č. 352051), jak je uvedeno v tabulce níže. Objem lze rozdělit do 2 nebo více zkumavek.

## Výpočet objemu směsi interní kontroly

Typ zkumavky	Název na dotykové obrazovce QIASymphony	Výpočet objemu směsi interní kontroly – nosičové RNA (CARRIER) – Buffer AVE (AVE) na zkumavku
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, kat. č. 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. č. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, (BD <sup>§</sup> , kat. č. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

\* Tuto rovnici použijte na výpočet požadovaného objemu směsi interní kontroly ( $n$  = počet alikvotů;  $120 \mu\text{l}$  = objem směsi interní kontroly, nosiče RNA (CARRIER) a pufru Buffer AVE (AVE);  $360 \mu\text{l}$  = mezerový objem na zkumavku). Například pro 12 alikvotů ( $n = 12$ ):  $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1\,800 \mu\text{l}$ . Do zkumavky neplňte více než 1,9 ml (tj. maximálně 12 alikvotů na zkumavku). Pokud se bude zpracovávat více než 12 alikvotů, použijte další zkumavky a dbejte na to, aby byl do každé zkumavky přidán mrtvý objem.

† Tuto rovnici použijte na výpočet požadovaného objemu směsi interní kontroly, nosiče RNA (CARRIER) a pufru Buffer AVE (AVE) ( $n$  = počet alikvotů;  $120 \mu\text{l}$  = objem směsi interní kontroly, nosiče RNA (CARRIER) a pufru Buffer AVE (AVE);  $600 \mu\text{l}$  = mezerový objem na zkumavku). Například pro 96 alikvotů ( $n = 96$ ):  $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12\,120 \mu\text{l}$ .

§ Dříve byla dodavatelem těchto zkumavek společnost BD a novým dodavatelem je nyní společnost Corning Inc.

Požadované vložky jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na adrese [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Příprava materiálu alikvotu

Při práci s chemikáliemi noste vždy vhodný laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Další informace si vyhledejte v příslušných bezpečnostních listech (BL) které obdržíte od dodavatele výrobku.

Zamezte vytvoření pěny na nebo v alikvotech. V závislosti na výchozím materiálu může být nutná předběžná příprava alikvotu. Alikvoty by měly být před začátkem zpracování ekvilibrovány na pokojovou teplotu (15–25 °C).

**Poznámka:** Stabilita alikvotu vysoce závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Byla stanovena pro soupravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ve spojení s příklady následných aplikací. Uživatel je povinen prostudovat si návod k použití konkrétní následné aplikace používané v jeho laboratoři a/nebo ověřit celý pracovní postup za účelem stanovení vhodných podmínek skladování.

Obecná doporučení pro odběr, přepravu a skladování jsou uvedena ve schválené směrnici institutu CLSI MM13-A „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods“ (Odběr, přeprava, příprava a skladování vzorků pro molekulární metody). Dále je třeba při přípravě, skladování, přepravě alikvotů a obecné manipulaci s nimi dodržovat pokyny výrobce vybraného zařízení/soupravy pro odběr alikvotů.

## Plazma, sérum a alikvoty CSF

Postup purifikace je optimalizován pro použití plazmatu, séra nebo alikvotů CSF. K přípravě plazmy lze použít alikvoty krve upravené EDTA nebo citrátem jako antikoagulantem. Alikvoty mohou být buď čerstvé nebo zmražené s tím, že nebyly zmrazeny a neroztály více než jedenkrát. Po odběru a centrifugaci mohou být plazma a sérum uchovávány při teplotě 2–8 °C po dobu až 6 hodin.

Při delším skladování doporučujeme zmrazení alikvotních podílů na teplotu –20 °C nebo –80 °C. Zmrazená plazma či sérum se nesmějí rozmrazovat více než jednou. Opakované zmrazování a roztátí vede k denaturaci a precipitaci proteinů, což má za následek potenciálně snížené virové titry, a proto dává snížené výtěžky virových nukleových kyselin. Pokud jsou v alikvotech viditelné kryoprecipitáty, odstředíte je při otáčkách 6 800 x g po dobu 3 minut, supernatanty přeneste do nových zkumavek, aniž by došlo k narušení pelet, a okamžitě zahajte postup purifikace. Odstředováním při nízkých silách g nedochází ke snížení virových titrů.

## Omezení a interferující látky

Alikvoty krve upravené aktivátorem krevních sraženin mohou vést ke sníženým výtěžkům virových nukleových kyselin. Nepoužívejte zkumavky pro odběr krve Greiner Bio-One® Vacuette® Blood Collection Tube obsahující aktivátor sraženin Z Serum Clot Activator.

Nebyl zjištěn žádný další významný negativní vliv potenciálních interferujících látek (podrobnosti jsou uvedeny v příslušném dokumentu Performance Characteristics (Charakteristika funkčních vlastností), který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

**Poznámka:** Testování bylo provedeno pomocí ukázkových následných aplikací pro posouzení kvality extrahovaných nukleových kyselin. Různé následné aplikace však mohou mít různé požadavky na čistotu (tj. nepřítomnost potenciálních interferujících látek), takže identifikace a testování odpovídajících látek musejí být rovněž stanoveny jako součást vývoje následné aplikace pro jakýkoli pracovní postup zahrnující soupravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.

**Poznámka:** Podle normy ISO 20186-2:2019(E) může heparin ze zkumavek pro odběr krve ovlivnit čistotu izolovaných nukleových kyselin a případný přenos do eluátů by mohl způsobit inhibici v některých následných aplikacích. Proto doporučujeme pro přípravu plazmy používat krevní alikvoty ošetřené EDTA nebo citrátem jako antikoagulantem.





## Uchovávání eluátů

**Poznámka:** Stabilita eluátů závisí na různých faktorech a souvisí s konkrétní následnou aplikací. Byla stanovena pro soupravy QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit ve spojení s příklady následných aplikací. Uživatel je povinen prostudovat si návod k použití konkrétní následné aplikace používané v jeho laboratoři a/nebo ověřit celý pracovní postup za účelem stanovení vhodných podmínek skladování.

V případě krátkodobého uchovávání do 24 hodin doporučujeme uchovávat purifikované nukleové kyseliny při teplotě 2–8 °C. Pro dlouhodobé uchovávání delší než 24 hodin doporučujeme uchovávat při teplotě –20 °C.

## Symboly

V tomto dokumentu se vyskytují následující symboly. Úplný seznam symbolů použitých v návodu k použití nebo na obalu a označení naleznete v příručce.

Symbol	Definice symbolu
	Tento výrobek splňuje požadavky evropského nařízení 2017/746 pro diagnostické zdravotnické prostředky in vitro.
	Zdravotnický prostředek pro diagnostiku in vitro
	Katalogové číslo
Rn	R označuje revizi návodu k použití a n je číslo revize
	Výrobce

## Historie revizí

Revize	Popis
R1, červen 2022	Verze 2, revize 1 <ul style="list-style-type: none"><li>• Aktualizace na verzi 2 kvůli souladu s nařízením IVDR</li><li>• Rozšíření Preparation of sample material oddílu</li><li>• Přidání Limitations and interfering substances oddílu</li><li>• Přidání Storage of eluates oddílu</li><li>• Přidání Symbols oddílu</li></ul>

Aktuální licenční informace a odmítnutí odpovědnosti specifická pro výrobek jsou uvedeny v příslušné příručce pro sadu QIAGEN® nebo v uživatelské příručce. Příručky k sadám QIAGEN a uživatelské příručky jsou k dispozici na stránkách [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) nebo si je lze vyžádat od technických služeb společnosti QIAGEN nebo místního distributora.

Ochranné známky: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (skupina QIAGEN); BD™ (Becton Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrované názvy, ochranné známky atd. použité v tomto dokumentu, i když nejsou výslovně takto označeny, nelze považovat za nechráněné zákonem.  
06/2022 HB-3028-S08-001© 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.