

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

Protokol Complex400_V4_DSP

Verzia 2



Na diagnostické použitie in vitro

Na použitie so súpravou QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit



937055



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 Midi Kit
Materiál vzorky	Respiračné a urogenitálne vzorky
Názov protokolu	Complex400_V4_DSP
Predvolená kontrolná testovacia súprava	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
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	Buffer ATL (ATL)
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

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 chladienia)

Ďalšie informácie nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobcu 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 ^{††}	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

* Použitie viac než jedného internej kontroly na dávku a 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: Počty daných filtračných špičiek sa môžu líšiť od počtov zobrazených na dotykovej obrazovke v závislosti od nastavení. Odporúčame vložiť maximálny možný počet špičiek.

Zvolený elučný objem

Zvolený elučný objem (µl)*	Počiatkový 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.

[†] Počiatkový 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 počiatkových 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 výrobcu 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.

Skúmavky obsahujúce zmes interná kontrola – nosič RNA (CARRIER) – pufer Buffer AVE (AVE) sa vkladajú do nosiča skúmaviek. Nosič skúmaviek obsahujúci zmes (zmesi) interná kontrola – nosič RNA (CARRIER) – pufer Buffer AVE (AVE) musí byť umiestnený do slotu A zásuvky na vzorky.

Závisia od počtu vzoriek, ktoré je potrebné spracovať, na riedenie internej kontroly podľa popisu v tabuľke nižšie odporúčame použiť 2 ml skúmavky (Sarstedt, kat. č. 72.693 alebo 72.694) alebo 14 ml 17 x 100 mm polystyrénové skúmavky s okrúhlym dnom (BD™, kat. č. 352051). Objem môže byť rozdelený do 2 alebo viacerých skúmaviek.

Výpočet objemu zmesi internej kontroly

Typ skúmavky	Názov na dotykovej obrazovke QIASymphony	Výpočet objemu zmesi interná kontrola – nosič RNA (CARRIER) – pufer Buffer AVE (AVE) na skúmavku
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	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD [§] , kat. č. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Túto rovnicu použite na výpočet potrebného objemu zmesi internej kontroly (n = počet vzoriek; $120 \mu\text{l}$ = objem zmesi interná kontrola – nosič RNA (CARRIER) – pufer Buffer AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = prázdny objem potrebný na skúmavku). Napríklad pre 12 vzoriek ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Nepĺňte skúmavku na viac než 1,9 ml (t. j. maximum 12 vzoriek na skúmavku). Ak sa bude spracovávať viac než 12 vzoriek, použite dodatočné skúmavky a zabezpečte, aby bol pre každú skúmavku pridaný prázdny objem.

† Túto rovnicu použite na výpočet potrebného objemu zmesi interná kontrola – nosič RNA (CARRIER) – pufer Buffer AVE (AVE) (n = počet vzoriek; $120 \mu\text{l}$ = objem zmesi interná kontrola – nosič RNA (CARRIER) – pufer Buffer AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = prázdny objem potrebný na skúmavku). Napríklad pre 96 vzoriek ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

§ Spoločnosť BD bola predchádzajúcim dodávateľom tejto skúmavky a novým dodávateľom je teraz spoločnosť Corning Inc.

Informácie o požadovaných vložkách nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobcu na adrese www.qiagen.com.

Použitie laboratórnych pomôcok FIX

Použitie detekcie úrovne kvapaliny (Liquid-Level Detection, LLD) na prenos vzoriek umožňuje použitie primárnych a sekundárnych skúmaviek. To si však vyžaduje isté mŕtve objemy v príslušných skúmavkách. Na minimalizáciu mŕtvych objemov sa musia použiť sekundárne skúmavky bez detekcie hladiny kvapaliny. K dispozícii sú špecifické laboratórne pomôcky FIX (napr. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), ktoré sa tiež dajú zvoliť na dotykovej obrazovke QIASymphony SP. Tento typ skúmavky/stojana si vyžaduje obmedzenia aspirácie. Vzorka sa aspiruje do určitej výšky v skúmavke definovanej objemom vzorky, ktorý je potrebný preniesť. Preto je veľmi dôležité zabezpečiť, aby sa použil objem zaznamenaný do zoznamu laboratórnych pomôcok. Zoznam laboratórneho vybavenia je k dispozícii na stiahnutie na stránke www.qiagen.com v karte zdrojov na stránke výrobcu.

Skúmavky so vzorkami možno použiť s detekciou hladiny alebo bez nej a požadované objemy vzoriek sú tiež uvedené v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza na adrese www.qiagen.com v karte zdrojov na stránke výrobcu. Nepoužívajte objemy väčšie alebo menšie než požadovaný objem, keďže by to mohlo viesť k chybám počas prípravy vzoriek.

Skúmavky pre detekciu úrovne kvapaliny a skúmavky, ktoré nie sú určené na detekciu úrovne kvapaliny, sa dajú spracovávať v jednej dávke/sérii analýz.

Príprava materiálu vzorky

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.

Zabráňte tvorbe peny vo vzorkách alebo na nich. V závislosti od východiskového materiálu môže byť potrebné predbežné ošetrovanie 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. Preneste vzorku do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694) a vložte do nosiča skúmaviek. Prípadne sa môžu použiť primárne skúmavky. Požadovaný minimálny počiatočný objem sa môže meniť v závislosti od použitej primárnej skúmavky. Kompatibilné primárne a sekundárne formáty skúmaviek vrátane minimálneho počiatočného objemu potrebného pre každý protokol nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na strane výrobku na adrese www.qiagen.com. 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. 500 µl pufru Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016). Presuňte vzorku do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694). Vložte vzorku do nosiča skúmaviek a spracujte ju použitím protokolu Complex400_V4_DSP a požadovaných laboratórnych pomôcok FIX.

Izolácia genomickej DNA z gram-pozitívnej baktérie

Purifikácia DNA sa dá pre niektoré gram-pozitívne baktérie zlepšiť enzymatickou predbežnou úpravou pred prenosom vzorky do QIASymphony SP a spustením protokolu Complex400_V4_DSP.

1. Odstredujte baktériu pri 5 000 x g v priebehu 10 min.
2. Bakteriálnu granulu suspendujte v 500 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. Preneste vzorku do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694), vložte ju do nosiča skúmaviek a pokračujte v protokole Complex400_V4_DSP použitím požadovaných laboratórnych pomôcok FIX.

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.) ditiotreitolum (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. Preneste aspoň 500 µl vzorky do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694). Spracujte vzorku použitím protokolu Complex400_V4_DSP.

Vysušené tampóny s telesnou tekutinou a sekrétom

1. Ponorte konček vysušeného tampónu do 750 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. Preneste aspoň 500 µl vzorky do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694). Vzorku spracujte pomocou protokolu Complex400_V4_DSP.

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 500 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 odstrániť 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). Preneste vzorku do 2 ml skúmavky Sarstedt (kat. č. 72.693 alebo 72.694) a vložte do nosiča skúmaviek. Prípadne sa môžu použiť primárne skúmavky. Požadovaný minimálny počiatočný objem sa môže meniť v závislosti od použitej primárnej skúmavky. Kompatibilné primárne a sekundárne skúmavky vrátane minimálneho počiatočného objemu potrebného pre každý protokol nájdete v zozname laboratórneho vybavenia, ktorý sa nachádza v karte zdrojov na stránke výrobcu na adrese www.qiagen.com.

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
	Výrobca

História revízií

Revízia

Popis

R1, jún 2022

Verzia 2, revízia 1

- 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), BD™ (Becton Dickinson a spoločnosť), 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-S03-001© 2022 QIAGEN, všetky práva vyhradené.