



Červen 2022

Návod k použití soupravy QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit (list protokolu)

Protokol Complex200_V6_DSP

Verze 2

IVD

Pro diagnostické použití in vitro

Pro použití se soupravou QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit



REF

937036



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.

Všeobecné informace

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

Sada	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Materiál alikvoty	Respirační a urogenitální alikvoty
Název protokolu	Complex200_V6_DSP
Výchozí kontrolní sada analýzy	ACS_Complex200_V6_DSP_default_IC
Editovatelné	Objem eluátu: 60, 85 a 110 µl
Vyžadovaná verze softwaru	Verze 4.0 nebo vyšší
Požadovaná konfigurace softwaru pro použití IVD	Výchozí profil 1

Zásuvka „Sample“ (Alikvot)

Typ alikvoty	Moč, urogenitální stěry (v přepravních médiích, např. PreservCyt®, UTM, eNAT™) a respirační stěry (suché stěry nebo v přepravních médiích, např. UTM, eNAT)
Objem alikvoty	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 .
Objem zpracovaného alikvoty	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce www.qiagen.com .
Odběrové zkumavky alikvoty	Další informace jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce www.qiagen.com .
Zkumavky sekundárního alikvoty	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 .
Vložky	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 .
Jiné	Nutná je směs nosiče RNA a pufru Buffer AVE; použití interní kontroly je volitelné

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

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

Zásuvka „Waste“ (Odpad)

Držák jednotkové krabice 1–4	Prázdňé jednotkové krabice
Držák odpadních sáčků	Odpadní sáček
Držák nádoby na tekutý odpad	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.

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††	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

* 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.

† Jeden stojánek na špičky obsahuje 32 špiček s filtrem.

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

§ V jednotkové krabici je 28 kazet pro přípravu alikvotů.

¶ 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)†
60	90
85	115
110	140

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

† 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	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	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.

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, non-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 [§] , 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 μl = objem směsi interní kontroly, nosiče RNA (CARRIER) a pufru Buffer AVE (AVE); 360 μl = 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 μl = objem směsi interní kontroly, nosiče RNA (CARRIER) a pufru Buffer AVE (AVE); 600 μl = 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.

Použití laboratorního vybavení FIX

Při použití detekce hladiny tekutiny (Liquid-Level Detection, LLD) na přenos alikvotů je možno používat primární (odběrové) a sekundární zkumavky. V tom případě však musí být v příslušných zkumavkách určité mrtvé objemy. K minimalizaci mrtvých objemů by měly být použity sekundární zkumavky bez detekce hladiny kapaliny. K dispozici je specifické laboratorní vybavení FIX (např. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), které lze zvolit i na dotykové obrazovce přístroje QIASymphony SP. Tento typ zkumavek/stojanů přináší omezení pro odsávání. Alikvot se odsává v dané výšce ve zkumavce, která je definována objemem přenášeného alikvotu. Proto se musí použít objem uvedený v seznamu laboratorního vybavení. Seznam laboratorního vybavení je k dispozici ke stažení na webové stránce www.qiagen.com pod kartou zdrojů na produktové stránce.

Zkumavky na alikvoty, které lze použít s detekcí hladiny kapaliny anebo bez ní, a požadované objemy alikvotů jsou rovněž uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt na webových stránkách www.qiagen.com pod kartou zdrojů na produktové stránce. Nepoužívejte větší nebo menší než požadované objemy, neboť to může vést k chybám při přípravě alikvotu.

Zkumavky pro detekci hladiny tekutiny a zkumavky, které nejsou určeny pro detekci hladiny tekutiny, lze zpracovávat v jedné šarži/cyklu.

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.

Moč

Moč lze uchovávat při teplotě 2–8 °C až 6 hodin. Při delším skladování doporučujeme zmrazení na teplotu –20 °C nebo –80 °C. Moč lze zpracovávat bez další předběžné úpravy. Alikvot přeneste do 2 ml zkumavky Sarstedt (kat. č. 72.693 nebo 72.694) a alikvot umístěte do nosiče zkumavek. Případně lze použít primární zkumavky. Požadovaný minimální počáteční objem se může lišit v závislosti na použité primární zkumavce. Kompatibilní formáty primárních a sekundárních zkumavek, včetně minimálního počátečního objemu potřebného pro jednotlivé protokoly, jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webové stránce www.qiagen.com. Systém je optimalizován pro čisté alikvoty moči, které neobsahují konzervanty. Pro zvýšení citlivosti na bakteriální patogeny se mohou alikvoty odstředit v odstředivce. Po odstranění supernatantu lze peletu resuspendovat nejméně v 300 µl pufru Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016). Přeneste 220 µl alikvotu do 2ml zkumavky Sarstedt (kat. č. 72.693 nebo 72.694). Alikvot uložte do nosiče zkumavek a zpracujte podle protokolu Complex200_V6_DSP a pomocí potřebného laboratorního vybavení FIX.

Izolace genomové DNA z gram-pozitivních bakterií

U některých gram-pozitivních bakterií lze před přenosem alikvotu do přístroje QIASymphony SP a zahájením protokolu Complex200_V6_DSP purifikaci DNA zlepšit enzymatickou předběžnou úpravou.

1. Bakterie oddělte odstřediváním při 5 000 x g po dobu 10 minut.
2. Bakteriální peletu suspendujte v 300 µl vhodného roztoku enzymu (20 mg/ml lysozymu nebo 200 µg/ml lysostafinu v 20mM Tris·HCl, pH 8,0; 2mM EDTA; 1,2% Triton X-100).
3. Inkubujte při teplotě 37 °C po dobu nejméně 30 minut.
4. Zkumavku krátce odstředte, aby se odstranily kapky z vnitřní strany víka.
5. Alikvot přeneste do 2ml zkumavky Sarstedt (kat. č. 72.693 nebo 72.694), alikvot umístěte do nosiče zkumavek a pokračujte podle protokolu Complex200_V6_DSP pomocí potřebného laboratorního vybavení FIX.

Viskózní nebo hlenovité alikvoty

Některé alikvoty mohou být viskózní, a aby je bylo možné pipetovat, musejí být nejprve zkapalněny. Alikvoty nízké viskozity další přípravu nevyžadují. Alikvoty střední a vysoké viskozity musí být připravovány takto:

1. Alikvot zředte v poměru 1 : 1 s 0,3% (hm./obj.) dithiotreiolem (dithiothreitol, DTT).

Poznámka: 0,3% (hm./obj.) roztok DTT lze připravit předem a skladovat v alikvotních podílech při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po použití roztáté alikvoty zlikvidujte.

2. Inkubujte při teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, dokud nebude viskozita vhodná pro pipetování.
3. Přeneste nejméně 300 μl alikvotu do 2 ml zkumavky Sarstedt (kat. č. 72.693 nebo 72.694). Alikvot zpracujte podle protokolu Complex200_V6_DSP.

Sušené stěry tělesných tekutin a sekretů

1. Špičku se sušeným stěrem ponořte do 550 μl pufru Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016) a za stálého míchání inkubujte při teplotě $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 15 minut. Není-li míchání možné, vortexujte před inkubací i po ní nejméně po dobu 10 sekund.
2. Tampon se stěrem vyjměte a všechnu tekutinu vytlačte přitisknutím tamponu na vnitřní stěnu zkumavky.
3. Přeneste nejméně 300 μl alikvotu do 2 ml zkumavky Sarstedt (kat. č. 72.693 nebo 72.694). Alikvot zpracujte podle protokolu Complex200_V6_DSP.

Poznámka: Tento protokol je optimalizován na bavlněné nebo polyethylenové tampony. Při použití jiných tamponů je třeba upravit objem pufru Buffer ATL (ATL), aby se zajistilo, že bude k dispozici nejméně 300 μl materiálu alikvotu.

Respirační nebo urogenitální stěry

Urogenitální stěry (v přepravních médiích, např. PreservCyt, UTM, eNAT) a respirační stěry (suché stěry nebo v přepravních médiích, např. UTM, eNAT) lze skladovat při teplotě $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu až 6 hodin. Při delším skladování doporučujeme zmrazení na teplotu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Skladovací média pro respirační nebo urogenitální stěry lze použít bez předběžné úpravy. Pokud nebyl tampon se stěrem vyjmut, přitiskněte ho o stěnu zkumavky, aby se vytlačila tekutina. Současně je nutno jakýkoli přebytečný hlen z alikvotu odstranit jeho odběrem na tampon. Jakoukoli zbytkovou tekutinu z hleny a tamponu je poté nutno vytlačit přitisknutím tamponu se stěrem na stěnu zkumavky. Nakonec je nutno tampon se stěry a hlen vyjmout a zlikvidovat. Pokud jsou alikvoty viskózní, proveďte před přenosem alikvotu do přístroje QIASymphony SP krok zkapalnění (viz odstavec „Viskózní nebo hlenovité alikvoty“). Pokud nemáte dostatek počátečního materiálu, napipetujte do přepravního média pufr Buffer ATL (ATL), abyste tak upravili požadovaný minimální počáteční objem a alikvot ve zkumavce protřepávejte ve vortexu po dobu 15–30 sekund (pokud je v přepravním médiu tampon se stěry, tento krok proveďte před vyjmutím tamponu). Alikvot přeneste do 2 ml zkumavky Sarstedt (kat. č. 72.693 nebo 72.694) a alikvot umístěte do nosiče zkumavek. Případně lze použít primární zkumavky. Požadovaný minimální počáteční objem se může lišit v závislosti na použité primární zkumavce. Kompatibilní primární a sekundární zkumavky, včetně minimálního počátečního objemu potřebného pro jednotlivé protokoly, jsou uvedeny v seznamu laboratorního vybavení, který lze nalézt pod kartou zdrojů na produktové stránce na webových stránkách www.qiagen.com.

Omezení a interferující látky

Nebyl zjištěn žádný 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).

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.





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.

Pro krátkodobé skladování po dobu až 24 hodin doporučujeme skladovat purifikované nukleové kyseliny při 2–8°C. Pro dlouhodobé skladování přes 24 hodin doporučujeme skladování při –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">• Aktualizace na verzi 2 kvůli souladu s nařízením IVDR• Rozšíření Příprava materiálu alikvotuoddílu• Přidání Omezení a interferující látkyoddílu• Přidání Uchovávání eluátůoddílu• Přidání Symbolyoddílu

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 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); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); PreservCyt® (Hologic, Inc.); 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-S01-001© 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.