



Červen 2022

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

Protokol Complex200\_OBL\_V4\_DSP

Verze 2



Pro diagnostické použití in vitro

Pro použití se soupravou QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit



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](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 Mini Kit
<b>Materiál alikvoty</b>	Respirační a urogenitální alikvoty
<b>Název protokolu</b>	Complex200_OBL_V4_DSP
<b>Výchozí kontrolní sada analýzy</b>	ACS_Complex200_OBL_V4_DSP
<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 alikvoty</b>	Moč, urogenitální stěry (v přepravních médiích, např. PreservCyt®, UTM, eNAT™) a respirační stěry (suché stěry nebo v přepravních médiích, např. UTM, eNAT)
<b>Objem alikvoty</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 alikvoty</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 alikvoty</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 alikvoty</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 reagenciemi (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>	Prázdné 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>	96	96	128	128
Disposable filter-tips, 1500 µl <sup>††</sup>	128	192	224	288
Sample prep cartridges <sup>§</sup>	18	36	54	72
8-Rod Covers <sup>¶</sup>	3	6	9	12

\* Provedení více než jedné kontroly inventáře vyžaduje přídavné špičky s filtrem k jednorázovému použití. 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 liší od počtu, který je zobrazen na dotykové obrazovce, a to v závislosti na nastaveních, např. počtu interních kontrol použitých na jednu šarži.

## 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	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](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.

## Lýza mimo přístroj

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

Protokoly QIASymphony Complex zahrnují 4 kroky: lýzu, vázání, promývání a eluci. U některých alikvotů je vhodné provádět lýzu manuálně, např. pro inaktivaci patogenů v biologicky bezpečné skříní. Protokol Complex200\_OBL\_V4\_DSP umožňuje podobné provedení manuální lýzy jako protokol Complex200\_V6\_DSP. Předem upravené alikvoty se přenesou do přístroje QIASymphony SP a zpracují se podle protokolu Complex200\_OBL\_V4\_DSP.

**Poznámka:** Protokol Complex200\_OBL\_V4 vyžaduje pufr Buffer ACL a pufr Buffer ATL (ATL). Pufr Buffer ACL (kat. č. 939017) a pufr Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016) nejsou součástí sady QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit a je nutno je objednat samostatně.

## Manuální lýza

1. Do 2ml zkumavky Sarstedt® (kat. č. 72.693 nebo 72.694) napipetujte směs interní kontroly, 20 µl proteinázy K, 100 µl pufru Buffer ATL (ATL), 120 µl nosiče RNA + 190 µl pufru Buffer ACL.

**Poznámka:** Pokud se bude pomocí manuální lýzy zpracovávat více než jeden alikvot, lze připravit základní koncentrovaný roztok tohoto roztoku. Jednoduše vynásobte objemy nutné na jeden alikvot celkovým počtem alikvotů, které se mají zpracovat, a přidejte dodatečný objem ekvivalentní 2 dalším alikvotům. Zkumavku několikrát převraťte, aby se roztok promíchal, pro každý alikvot přeneste do 2 ml zkumavky Sarstedt 430 µl a poté u každého alikvotu pokračujte krokem 4.

2. Uzavřete víčko a promíchejte 5x otočením zkumavky.
3. Zkumavku krátce odstředějte, aby se odstranily kapky z vnitřní strany víčka.
4. Do zkumavky přidejte 200 µl alikvotu, uzavřete víčko a míchejte 10 sekund na pulzní třepačce.
5. Inkubujte po dobu 15 minut při teplotě 68 °C.
6. Zkumavku krátce odstředějte, aby se odstranily kapky z vnitřní strany víčka.
7. Do nosiče zkumavek umístěte vložky pro příslušné zkumavky na alikvoty a naplňte ho zkumavkami na alikvoty (bez víček).

## Příprava materiálu alikvotu

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. 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 200 µl pufru Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016). Jako alikvot pro přípravu lýzy mimo přístroj použijte 200 µl předem upraveného materiálu.

## Izolace genomové DNA z gram-pozitivních bakterií

U některých gram-pozitivních bakterií lze před přenosem alikvoty do přístroje QIASymphony SP a zahájením protokolu Complex200\_OBL\_V4\_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 200 µl vhodného roztoku enzymu (20 mg/ml lysozymu nebo 200 µg/ml lysostafinu ve 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. Jako alikvot pro přípravu lýzy mimo přístroj použijte 200 µl předem upraveného materiálu.

## 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 °C. Po použití roztáté alikvoty zlikvidujte.
2. Inkubujte při teplotě 37 °C, dokud nebude viskozita vhodná pro pipetování.
3. Jako alikvot pro přípravu lýzy mimo přístroj použijte 200 µl předem upraveného materiálu.

## Sušené stěry tělesných tekutin a sekretů

1. Špičku se sušeným stěrem ponořte do 450 µl pufru Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016) a za stálého míchání inkubujte při teplotě 56 °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. Jako alikvot pro přípravu lýzy mimo přístroj použijte 200 µl předem upraveného materiálu.  
**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 200 µl materiálu alikvoty.

## 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 2–8 °C po dobu až 6 hodin. Při delším skladování doporučujeme zmrazení na teplotu –20 °C nebo –80 °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 tekutina vytlačila. 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 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). Jako alikvot pro přípravu lžý mimo přístroj použijte 200 µl materiálu.

## 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](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.






## 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.

## Symbole

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
	Teplotní rozmezí
	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 Příprava materiálu alikvotuoddílu</li><li>• Přidání Omezení a interferující látkyoddílu</li><li>• Přidání Uchovávání eluátůoddílu</li><li>• Přidání Symbolyoddílu</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); 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-S02-001© 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.