



Červen 2022

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

Protokol Complex400_OBL_V4_DSP

Verze 2



Pro diagnostické použití in vitro

Pro použití se soupravou QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit



REF

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.

Všeobecné informace

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

Sada	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Materiál alikvoty	Respirační a urogenitální alikvoty
Název protokolu	Complex400_OBL_V4_DSP
Výchozí kontrolní sada analýzy	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
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 reagenty (Reagent cartridge, RC)
Poloha B1	–
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

– = neuvedeno.

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†	96	96	128	128
Disposable filter-tips, 1500 µl†	128	192	224	288
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	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 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.

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 skříně. Protokol Complex400_OBL_V4_DSP umožňuje podobné provedení manuální lýzy jako protokol Complex400_V4_DSP. Předem upravené alikvoty se přenesou do přístroje QIASymphony SP a zpracují podle protokolu Complex400_OBL_V4_DSP.

Poznámka: Protokol Complex400_OBL_V4_DSP 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 Midi Kit a je nutno je objednat samostatně.

Manuální lýza

1. Do 2 ml zkumavky Sarstedt (kat. č. 72.693 nebo 72.694) napipetujte směs 40 µl proteinázy K, 165 µl pufru Buffer ATL (ATL), 120 µl nosičové RNA a interní kontroly a 315 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 640 µl a poté u každého valikvotu 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 400 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 v nejméně 400 µl pufru Buffer ATL (ATL) (kat. č. 939016). Jako alikvot pro přípravu lýzy mimo přístroj použijte 400 µl předem upraveného materiálu.

Izolace genomové DNA z gram-pozitivních bakterií

U některých gram-pozitivních bakterií lze před přenosem alikvotu do přístroje QIASymphony SP a zahájením protokolu Complex400_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 400 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. Jako alikvot pro přípravu lýzy mimo přístroj použijte 400 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% roztok DTT lze připravit předem a skladovat ve vhodných alikvotech při teplotě –20 °C. Roztavené alikvoty se musí po použití zlikvidovat.
2. Inkubujte při teplotě 37 °C, dokud nebude viskozita vhodná pro pipetování.
3. Jako alikvot pro přípravu lýzy mimo přístroj použijte 400 µl předem upraveného materiálu.

Sušené stěry tělesných tekutin a sekretů

1. Špičku se sušeným stěrem ponořte do 650 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 400 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 400 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 2–8 °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 vytlačila tekutina. Současně je nutno jakýkoli přebytečný hlen ze 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 hleny 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 lžýcky mimo přístroj použijte 400 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).

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); 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-S04-001© 2022 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.