

Instrucțiuni de utilizare (fișa de protocol) pentru QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Kit

Complex400_V4_DSP protocol

Versiunea 2



A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro

Pentru utilizare cu QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit



937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1

Fișa de protocol este disponibilă electronic și poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com.

Informații generale

QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit este destinat utilizării pentru diagnostic in vitro.

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Material de probă	Probe respiratorii și urogenitale
Denumire protocol	Complex400_V4_DSP
Set implicit de control al testului	ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC
Editabil	Volum eluat: 60, 85 și 110 µl
Versiune software necesară	Versiunea 4.0 sau mai recentă
Configurație software necesară pentru utilizare IVD	Profil implicit 1

Sertarul „Sample” (Probă)

Tip probă	Urină, tamponate urogenitale (în mediu de transport, de exemplu, PreservCyt®, UTM, eNAT™) și tamponate respiratorii (tamponate uscate sau în mediu de transport, de exemplu, UTM, eNAT)
Volum probă	Depinde de tipul de eprubetă pentru probe utilizat; pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com
Volum probă procesat	Pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com
Eprubete pentru probă primare	Pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com
Eprubete pentru probă secundare	Depinde de tipul de eprubetă pentru probe utilizat; pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com
Elemente de inserție	Depinde de tipul de eprubetă pentru probe utilizat; pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com
Altele	Amestec ARN de transport (CARRIER) – Buffer AVE necesar; utilizarea substanței de control interne este opțională

Sertarul „Reagents and Consumables” (Reactivi și consumabile)

Poziția A1 și/sau A2	Cartuș cu reactivi (Reagent cartridge, RC)
Poziția B1	Buffer ATL (ATL)
Suport al stativului pentru vârfuri 1-17	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 200 µl
Suport al stativului pentru vârfuri 1-17	Vârfuri cu filtru de unică folosință, 1500 µl
Suport al cutiilor individuale 1-4	Cutii individuale care conțin cartușe pentru prepararea probelor
Suport al cutiilor individuale 1-4	Cutii individuale care conțin 8-Rod Covers

Sertarul „Waste” (Deșeuri)

Suport al cutiilor individuale 1-4	Cutii individuale goale
Suport al pungilor pentru deșeuri	Pungă pentru deșeuri
Suport al flaconului de deșeuri lichide	Flacon de deșeuri lichide

Sertarul „Eluate” (Eluat)

Stativ de eluție (recomandăm utilizarea fantei 1, poziție de răcire)

Pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com.

Componente din plastic necesare

Componente din plastic	Un lot 24 de probe*	Două loturi 48 de probe*	Trei loturi 72 de probe*	Patru loturi 96 de probe*
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

* Utilizarea mai multor substanțe de control interne pe lot și efectuarea mai multor scanări ale inventarului necesită vârfuri cu filtru de unică folosință suplimentare. Utilizarea a mai puțin de 24 de probe pe lot scade numărul de vârfuri cu filtru de unică folosință necesar pentru fiecare testare.

† Există 32 de vârfuri cu filtru/stativ pentru vârfuri.

‡ Numărul de vârfuri cu filtru necesare include vârfuri cu filtru pentru 1 scanare a inventarului pe cartuș cu reactivi (Reagent Cartridge, RC).

§ Există 28 de cartușe de preparare a probei/cutie individuală.

¶ Există douăsprezece 8-Rod Covers/cutie individuală.

Rețineți: Numărul specificat de vârfuri cu filtru poate diferi de numărul afișat pe ecranul tactil, în funcție de setări. Recomandăm încărcarea unui număr maxim posibil de vârfuri.

Volum de eluție selectat

Volum de eluție selectat (µl)*	Volum de eluție inițial (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Volumul de eluție selectat pe ecranul tactil. Acesta este volumul minim accesibil de eluat din eprubeta de eluție finală.

† Volumul inițial de soluție de eluție necesară pentru a asigura că volumul de eluat propriu-zis este același cu volumul selectat.

Prepararea amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–Buffer AVE (AVE)

Volum de eluție selectat (µl)	Volum ARN de transport (CARRIER) standard (µl)	Volum substanță de control internă (µl)*	Volum Buffer AVE (AVE) (µl)	Volum final pe probă (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Calculul cantității de substanță de control internă se bazează pe volumele de eluție inițiale. Volumul suplimentar al goluilor depinde de tipul eprubetei pentru probă utilizate; pentru informații suplimentare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com.

Rețineți: Valorile afișate în tabel se referă la prepararea amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER) pentru un test în aval, care necesită 0,1 µl substanță de control internă/µl eluat.

Eprubetele care conțin amestec de substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) sunt introduse într-un suport de eprubete. Suportul de eprubete care conțin amestecul (amestecurile) de substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) trebuie introdus în fanta A a sertarului pentru probe.

În funcție de numărul de probe care trebuie procesate, recomandăm utilizarea 2 ml tubes (Sarstedt, nr. cat. 72.693 sau 72.694) sau a 14 ml 17 x 100 mm polystyrene, round-bottom tubes (BD™, nr. cat. 352051) pentru diluarea substanței de control interne, conform descrierii din tabelul de mai jos. Volumul poate fi împărțit în 2 sau mai multe eprubete.

Calculul volumului amestecului de substanță de control internă

Tip eprubetă	Nume pe ecranul tactil QIASymphony	Calculul volumului amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) pe eprubetă
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, nr. cat. 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, nr. cat. 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§, nr. cat. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utilizați această ecuație pentru a calcula volumul necesar de amestec de substanță de control internă (n = numărul probelor; $120 \mu\text{l}$ = volumul amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–Buffer AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = volumul goluilor necesar pe eprubetă). De exemplu, pentru 12 probe ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Nu umpleți eprubeta mai mult de 1,9 ml (adică maxim 12 de probe pe eprubetă). Dacă vor fi procesate mai mult de 12 de probe, utilizați eprubete suplimentare, asigurându-vă că volumul goluilor este adăugat la fiecare eprubetă în parte.

† Utilizați această ecuație pentru a calcula volumul necesar de amestec de substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–Buffer AVE (AVE) (n = numărul probelor; $120 \mu\text{l}$ = volumul amestecului substanță de control internă–ARN de transport (CARRIER)–Buffer AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = volumul goluilor necesar pe eprubetă). De exemplu, pentru 96 probe ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

§ Această eprubetă era furnizată anterior de BD, iar noul furnizor este acum Corning Inc.

Pentru elementele de inserție necesare, consultați lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com.

Utilizarea instrumentarului de laborator FIX

Utilizarea detecției nivelului de lichid (Liquid-Level Detection, LLD) pentru transferul probei permite utilizarea eprubetelor primare și a celor secundare. Totuși, aceasta necesită anumite volume moarte în eprubetele respective. Pentru a reduce la minimum volumele moarte, eprubetele secundare trebuie utilizate fără detecția nivelului de lichid. Este disponibil instrumentar de laborator FIX specific (de exemplu, SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), care poate fi selectat și pe ecranul tactil al QIASymphony SP. Acest tip de eprubetă/stativ impune restricții privitoare la aspirare. Proba este aspirată în eprubetă la o anumită înălțime, definită de volumul probei care trebuie transferată. Prin urmare, este esențial să vă asigurați că este folosit volumul menționat în lista instrumentarului de laborator. Lista instrumentarului de laborator este disponibilă la adresa www.qiagen.com sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului.

Eprubetele pentru probe care pot fi utilizate cu sau fără detectarea nivelului de lichid și volumele de probă necesare sunt, de asemenea, enumerate în lista instrumentarului de laborator, la adresa www.qiagen.com sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului. Nu utilizați volume mai mari sau mai mici decât volumul necesar, deoarece acestea pot genera erori în timpul preparării probelor.

Eprubetele pentru detecția nivelului de lichid și eprubetele care nu sunt destinate detecției nivelului de lichid pot fi procesate în cadrul unui singur lot/unei singure testări.

Prepararea materialului de probă

Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvate. Pentru informații suplimentare, consultați fișele cu date de securitate (Safety Data Sheets, SDS) corespunzătoare, disponibile de la furnizorul produsului.

Evitați formarea de spumă în interiorul sau deasupra probelor. În funcție de materialul inițial, poate fi necesară tratarea prealabilă a probelor. Probele trebuie să fie echilibrate la temperatura camerei (15-25 °C) înainte de a începe testarea.

Rețineți: Stabilitatea probelor depinde foarte mult de factori variați și este legată de aplicația din aval specifică. S-a stabilit pentru kiturile QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit împreună cu aplicații din aval tipice. Este responsabilitatea utilizatorului să consulte instrucțiunile de utilizare ale aplicației din aval specifice utilizate în laboratorul propriu și/sau să valideze întregul flux de lucru pentru a stabili condițiile de depozitare corespunzătoare.

Pentru recomandări generale privind recoltarea, transportul și depozitarea, consultați ghidul CLSI MM13-A aprobat, „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods” (Recoltarea, transportul, prepararea și depozitarea eșantioanelor pentru metode moleculare). În plus, trebuie urmate instrucțiunile producătorului pentru dispozitivul/kitul de recoltare a probelor selectat în timpul preparării, depozitării, transportului și manipulării generale a probelor.

Urină

Urina poate fi depozitată la 2-8 °C timp de până la 6 ore. Pentru o depozitare mai îndelungată, recomandăm congelarea la -20 °C sau la -80 °C. Urina poate fi procesată fără o tratare prealabilă. Transferați proba într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694) și introduceți proba în suportul de eprubete. Alternativ, pot fi utilizate eprubete primare. Volumul inițial minim necesar poate varia, în funcție de eprubeta primară folosită. Formatele compatibile de eprubete primare și secundare, inclusiv volumul inițial minim necesar pentru fiecare protocol sunt enumerate în lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la www.qiagen.com. Sistemul este optimizat pentru probe de urină pure, care nu conțin conservanți. Pentru a mări sensibilitatea la patogeni bacterieni, probele pot fi centrifugate. După eliminarea lichidului supernatant, peletul poate fi resuspendat în minimum 500 μl de Buffer ATL (ATL) (cat. nr. 939016). Transferați proba într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694). Introduceți proba în suportul de eprubete și procesați proba folosind protocolul Complex400_V4_DSP și instrumentarul de laborator FIX necesar.

Izolarea ADN-ului genomic din bacteriile Gram-pozitive

Purificarea ADN-ului poate fi îmbunătățită pentru unele bacterii Gram-pozitive prin tratarea enzimatică prealabilă, înainte de transferul probei la QIASymphony SP și înainte de inițierea protocolului Complex400_V4_DSP.

1. Peletați bacteriile prin centrifugare la 5000 x g timp de 10 minute.
2. Suspențați peletul bacterian în 500 μl de soluție enzimatică adecvată (20 mg/ml lizozimă sau 200 μg/ml lizostafină în 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100).
3. Incubați la 37 °C timp de cel puțin 30 minute.
4. Centrifugați pentru scurt timp eprubeta pentru a elimina picăturile din interiorul capacului.
5. Transferați proba într-un 2 ml Sarstedt tube (nr. cat. 72.693 sau 72.694), introduceți proba în suportul de eprubete și continuați cu protocolul Complex400_V4_DSP folosind instrumentarul de laborator FIX necesar.

Probe vâscoase sau mucoase

Unele probe pot fi vâscoase și necesită lichefierea pentru a permite pipetarea. Probele cu viscozitate redusă nu necesită o preparare suplimentară. Probele cu viscozitate de la medie la ridicată trebuie preparate după cum urmează:

1. Diluați proba 1:1 cu 0,3 % (w/v) ditiotreititol (dithiothreititol, DTT).

Rețineți: Soluția 0,3% (w/v) DTT poate fi realizată în prealabil și depozitată în alicote la –20 °C. După utilizare, aruncați alicotele decongelate.

2. Incubați la 37 °C până când viscozitatea probei este adecvată pentru pipetare.
3. Transferați cel puțin 500 µl de probă într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694). Procesați proba utilizând protocolul Complex400_V4_DSP.

Tampoane uscate cu fluide corporale și cu secreții

1. Scufundați vârful tamponului uscat în 750 µl de Buffer ATL (ATL) (nr. cat. 939016) și incubați la 56 °C timp de 15 minute, amestecând în continuu. Dacă amestecarea nu este posibilă, vortexați înainte și după incubare, timp de minimum 10 secunde.
2. Scoateți tamponul și stoarceți tot lichidul, prin apăsarea tamponului pe interiorul eprubetei.
3. Transferați cel puțin 500 µl de probă într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694). Procesați proba cu protocolul Complex400_V4_DSP.

Rețineți: Acest protocol este optimizat pentru tampoane din bumbac sau din polietilenă. La utilizarea unor tampoane diferite, poate fi necesară ajustarea volumului de Buffer ATL (ATL) pentru a vă asigura că este disponibil material de probă într-o cantitate minimă de 500 µl.

Tampoane respiratorii sau urogenitale

Tampoanele urogenitale (în mediu de transport, de exemplu, PreservCyt, UTM, eNAT) și tampoanele respiratorii (tampoane uscate sau în mediu de transport, de exemplu, UTM, eNAT) pot fi depozitate la 2-8 °C timp de până la 6 ore. Pentru o depozitare mai îndelungată, recomandăm congelarea la –20 °C sau la –80 °C.

Mediul de depozitare pentru tampoanele respiratorii sau urogenitale poate fi folosit fără tratare prealabilă. Dacă tamponul nu a fost scos, apăsați-l de peretele eprubetei pentru a stoarce lichidul. Orice mucus în exces în specimen trebuie eliminat în acest moment, prin colectarea acestuia pe tampon. Orice lichid rezidual din mucus și din tampon trebuie stors ulterior, prin apăsarea tamponului pe peretele eprubetei. În cele din urmă, tamponul și mucusul trebuie scoase și aruncate. Dacă probele sunt vâscoase, efectuați pasul de lichefiere (consultați secțiunea „Viscous or mucous samples”), înainte să transferați proba pe QIASymphony SP. Dacă materialul inițial nu este suficient, pipetați soluția tampon ATL (ATL) în mediul de transport pentru a ajusta volumul inițial minim necesar și vortexați proba timp de 15-30 de secunde în eprubetă (dacă mediul de transport conține tamponul, efectuați acest pas înainte de scoaterea tamponului). Transferați proba într-un tub Sarstedt de 2 ml (cat. nr. 72.693 sau 72.694) și introduceți proba în suportul de eprubete. Alternativ, pot fi utilizate eprubete primare. Volumul inițial minim necesar poate varia, în funcție de eprubeta primară folosită. Eprubetele primare și secundare compatibile, inclusiv volumul inițial minim necesar pentru fiecare protocol sunt enumerate în lista instrumentarului de laborator, care poate fi găsită sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la www.qiagen.com.

Limitări și substanțe de interferență

Nu s-a observat un impact negativ semnificativ al substanțelor de interferență potențiale (pentru detalii, consultați documentul Caracteristici de performanță aplicabil, care poate fi găsit sub fila Resource (Resurse) a paginii produsului, la adresa www.qiagen.com).

Rețineți: Testarea a fost efectuată utilizând aplicații din aval tipice pentru o evaluare a calității acizilor nucleici extrași. Cu toate acestea, diferite aplicații din aval pot avea cerințe diferite în ceea ce privește puritatea (adică absența substanțelor de interferență potențiale), astfel încât identificarea și testarea substanțelor relevante trebuie, de asemenea, să fie stabilite ca parte a dezvoltării aplicației din aval pentru orice flux de lucru care implică produsele QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit.





Depozitarea eluatelor

Rețineți: Stabilitatea eluatului depinde foarte mult de factori variați și este legată de aplicația din aval specifică. S-a stabilit pentru kiturile QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit împreună cu aplicații din aval tipice. Este responsabilitatea utilizatorului să consulte instrucțiunile de utilizare ale aplicației din aval specifice utilizate în laboratorul propriu și/sau să valideze întregul flux de lucru pentru a stabili condițiile de depozitare corespunzătoare.

Pentru depozitarea pe o perioadă scurtă, de până la 24 de ore, se recomandă păstrarea acizilor nucleici purificați între 2-8 °C. Pentru depozitarea pe o perioadă îndelungată, de peste 24 de ore, se recomandă păstrarea la -20 °C.

Simboluri

În acest document apar următoarele simboluri. Pentru o listă completă a simbolurilor utilizate în instrucțiunile de utilizare sau pe ambalaj și etichetă, consultați manualul.

Simbol	Definiția simbolului
	Acest produs îndeplinește cerințele Regulamentului european 2017/746 pentru dispozitive medicale pentru diagnostic in vitro.
	Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro
	Număr catalog
Rn	R reprezintă revizuirea Instrucțiunilor de utilizare, iar n este numărul revizuirii
	Producător

Istoricul reviziilor

Ediție

Descriere

R1, iunie 2022

Versiunea 2, ediția 1

- Actualizare la versiunea 2 pentru conformitate cu IVDR
- Extinderea secțiunii Preparation of sample material
- Adăugarea secțiunii Limitations and interfering substances
- Adăugarea secțiunii Storage of eluates
- Adăugarea secțiunii Symbols

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN® respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kiturile QIAGEN sunt disponibile pe www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciile tehnice QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, QAsymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); PreservCyt® (Hologic, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege.
06/2022 HB-3028-S03-001© 2022 QIAGEN, toate drepturile rezervate.