

Rinkinio „QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit“ naudojimo instrukcija (protokolo lapas)

„Complex400_OBL_V4_DSP“ protokolas

2 versija



Skirta *in vitro* diagnostikai

Skirtas naudoti su „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“



REF

937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Vokietija

R1

Šis protokolo lapas pateikiamas elektroniniu formatu, jį galima rasti interneto svetainės www.qiagen.com gaminio puslapio išteklių skirtuke.

Bendroji informacija

Rinkinys „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit“ skirtas naudoti tik *in vitro* diagnostikai.

Rinkinys	„QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“
Mėginio medžiaga	Kvėpavimo takų ir urogenitaliniai mėginiai
Protokolo pavadinimas	Complex400_OBL_V4_DSP
Numatytasis tyrimo kontrolinių medžiagų rinkinys	ACS_Complex400_OBL_V4_DSP
Galima pasirinkti	Eliuato tūris: 60, 85 ir 110 µl
Reikalinga programinės įrangos versija	4.0 arba naujesnė versija
IVD reikalinga programinės įrangos konfigūracija	1-as numatytasis profilis

„Sample“ (mėginių) stalčius

Mėginio tipas	Šlapimo, urogenitaliniai tepinėliai (transportavimo terpėje, pvz., „PreservCyt [®] “, UTM, „eNAT [™] “) ir kvėpavimo takų tepinėliai (išdžiovinti arba transportavimo terpėje, pvz., UTM, „eNAT [™] “)
Mėginio tūris	Priklauso nuo naudojamo mėgintuvėlio tipo; daugiau informacijos žr. laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį galima rasti interneto svetainės www.qiagen.com gaminio puslapio išteklių skirtuke
Apdoroto mėginio tūris	Daugiau informacijos žr. laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį galima rasti interneto svetainės www.qiagen.com gaminio puslapio išteklių skirtuke
Pirminiai mėgintuvėliai	Daugiau informacijos žr. laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį galima rasti interneto svetainės www.qiagen.com gaminio puslapio išteklių skirtuke
Antriniai mėgintuvėliai	Priklauso nuo naudojamo mėgintuvėlio tipo; daugiau informacijos žr. laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį galima rasti interneto svetainės www.qiagen.com gaminio puslapio išteklių skirtuke
Įdėkliai	Priklauso nuo naudojamo mėgintuvėlio tipo; daugiau informacijos žr. laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį galima rasti interneto svetainės www.qiagen.com gaminio puslapio išteklių skirtuke
Kita	Reikalingas nešančiosios RNR ir „Buffer AVE“ mišinys; vidinė kontrolinė medžiaga naudojama pasirinktinai

„Reagents and Consumables“ (reagentų ir eksploatacinių reikmenų) stalčius

A1 ir (arba) A2 vieta	Reagentų kasetė (Reagent cartridge, RC)
B1 vieta	Nėra
Antgalių stovėlio laikiklis, 1–17	Vienkartiniai filtrų antgaliai, 200 µl
Antgalių stovėlio laikiklis, 1–17	Vienkartiniai filtrų antgaliai, 1500 µl
Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Elementų dėžutės su mėginių paruošimo kasetėmis
Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Elementų dėžutės su „8-Rod Covers“

Nėra = netaikoma.

„Waste“ (atliekų) stalčius

Elementų dėžutės laikiklis, 1–4	Tuščios elementų dėžutės
Atliekų maišelio laikiklis	Atliekų maišelis
Skystųjų atliekų butelio laikiklis	Skystųjų atliekų butelis

„Eluate“ (eliuato) stalčius

Eliuavimo stovėlis (rekomenduojame naudoti 1 lizdą, aušinimo padėtis)

Daugiau informacijos žr. laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį galima rasti interneto svetainės www.qiagen.com gaminio puslapio išteklių skirtuke

Reikalingos plastikinės priemonės

Plastiko gaminiai	Viena partija 24 mėginiai*	Dvi partijos 48 mėginiai*	Trys partijos 72 mėginiai*	Ketrios partijos 96 mėginiai*
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

* Jei atliekamas ne vienas reikmenų nuskaitymas, reikia papildomų vienkartinį filtrų antgalių. Jei partijoje naudojami mažiau nei 24 mėginiai, sumažėja tyrimui reikalingų vienkartinį antgalių skaičius.

† Antgalių stovelyje yra 32 filtrų antgaliai.

‡ Reikalingų filtrų antgalių skaičius apima filtrų antgalius, reikalingus vienos reagentų kasetės (RK) 1 reikmenų nuskaitymui.

§ Elementų dėžutėje yra 28 mėginių paruošimo kasetės.

¶ Elementų dėžutėje yra dvylika „8-Rod Covers“.

Pastaba. Pateiktas filtrų antgalių skaičius gali skirtis nuo jutikliniame ekrane rodomų skaičių; tai priklauso nuo nuostatų. Rekomenduojama įdėti didžiausią galimą antgalių skaičių.

Pasirinktas eliuavimo tūris

Pasirinktas eliuavimo tūris (µl)*	Pradinis eliuavimo tūris (µl)†
60	90
85	115
110	140

* Jutikliniame ekrane pasirinktas eliuavimo tūris. Tai yra mažiausias paskutiniame eliuavimo mėgintuvėlyje pasiekiamas eliuato tūris.

† Pradinis eliuavimo tirpalo tūris yra reikalingas tam, kad faktinis eliuato tūris sutaptų su pasirinktu tūriu.

Vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios „RNA (CARRIER)–Buffer AVE“ (AVE) mišinio paruošimas

Pasirinktas eliuavimo tūris (µl)	Pradinis nešančiosios RNR tūris (CARRIER) (µl)	Vidinės kontrolinės medžiagos tūris (µl)*	„Buffer AVE“ tūris (AVE) (µl)	Galutinis vieno mėginio tūris (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

* Vidinės kontrolinės medžiagos kiekio skaičiavimas pagrįstas pradiniu eliuavimo tūriu. Papildomas neveikos tūris priklauso nuo naudojamo mėgintuvėlio tipo; daugiau informacijos žr. laboratorinių reikmenų sąrašą, kurį galima rasti interneto svetainės www.qiagen.com gaminio puslapio išteklių skirtuke.

Pastaba. Lentelėje pateiktos vidinės kontrolinės medžiagos, nešančiosios RNR (CARRIER) mišinio, skirtos paskesniajam tyrimui, kuriam reikia 0,1 µl vidinės kontrolinės medžiagos/µl eliuato, paruošimo reikšmės.

Lizė ne prietaise

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis, visada dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinės pirštines ir užsidėkite apsauginius akinius. Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (*angl.* Safety Data Sheet, SDS), kuriuos gali pateikti gaminio tiekėjas.

„QIASymphony“ „Complex“ protokolus sudaro 4 etapai: lizavimo, jungimo, plovimo ir eliuavimo. Kai kuriuos mėginius naudinga lizuoti rankomis, pavyzdžiui, patogenams išaktyvinti biologinės saugos spintoje. Naudojant „Complex400_OBL_V4_DSP“ protokolą, galima lizuoti rankiniu būdu panašiai kaip ir naudojant „Complex200_V6_DSP“ protokolą. Iš anksto apdoroti mėginiai perkeliama į „QIASymphony SP“ ir apdorojami taikant „Complex400_OBL_V4_DSP“ protokolą.

Pastaba. Naudojant „Complex400_OBL_V4_DSP“ protokolą, reikalingas „Buffer ACL“ ir „Buffer ATL“ (ATL). „Buffer ACL“ (kat. nr. 939017) ir „Buffer ATL“ (ATL) (kat. nr. 939016) nėra rinkinyje „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit“ – juos reikia užsisakyti atskirai.

Rankinė lizė

1. Pipete sulašinkite 40 µl proteinazės K, 165 µl „Buffer ATL“ (ATL), 120 µl nešančiosios RNR vidinės kontrolinės medžiagos mišinio ir 315 µl „Buffer ACL“ į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį (kat. nr. 72.693 arba 72.694).

Pastaba. Jei rankinės lizės būdu apdorojamas ne vienas mėginys, galima paruošti pradinį tirpalą. Tiesiog padauginkite vienam mėginiui reikalingus tūrius iš bendro apdorojamų mėginių skaičiaus ir pridėkite papildomą tūrį, lygų 2 papildomų mėginių tūriui. Apverskite mėgintuvėlį kelis kartus, kad sumaišytumėte, perkelkite po 640 µl į 2 ml „Sarstedt“ mėgintuvėlį kiekvienam mėginiui, tuomet su kiekvienu mėginiu atlikite 4 veiksmą.

2. Uždenkite dangtelį ir sumaišykite apversdami mėgintuvėlį 5 kartus.
3. Trumpai centrifuguokite mėgintuvėlį, kad pašalintumėte lašelius nuo dangtelio vidinės pusės.
4. Įpilkite į mėgintuvėlį 400 µl mėginio, uždarykite dangtelį ir maišykite impulsine sūkurine maišykle 10 sek.
5. Inkubuokite mėgintuvėlį 68 °C temperatūroje 15 min.
6. Trumpai centrifuguokite mėgintuvėlį, kad pašalintumėte lašelius nuo dangtelio vidinės pusės.
7. Įdėkite atitinkamų mėgintuvėlių į dėklus į mėgintuvėlių laikiklį ir įstatykite mėgintuvėlius su mėginiais (be dangtelių).

Mėginio medžiagos paruošimas

Stenkitės, kad mėginiuose ar ant jų nesusidarytų putų. Atsižvelgiant į pradinę medžiagą, gali reikėti pirminio mėginio apdoravimo. Ketinami tirti mėginiai turi nusistovėti kambario temperatūroje (15–25 °C).

Pastaba. Mėginio stabilumas labai priklauso nuo įvairių veiksnių ir yra siejamas su konkrečia pasrovinio pritaikymo procedūra. Tai nustatyta rinkiniams „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit“, naudojamiems atliekant pavyzdines pasrovinio pritaikymo procedūras. Naudotojas turi pats paskaityti laboratorijoje taikomos konkrečios pasrovinio pritaikymo procedūros naudojimo instrukciją ir (arba) patikrinti visą darbo eigą, kad nustatytų tinkamas laikymo sąlygas.

Bendrosios paėmimo, transportavimo ir laikymo rekomendacijos pateikiamos patvirtintose CLSI gairėse MM13-A „Molekuliniu metodu tiriamų mėginių paėmimas, transportavimas, paruošimas ir laikymas“. Be to, ruošiant, laikant, transportuojant ir bendrai naudojant mėginius būtina vadovautis gamintojo nurodymais, taikomais pasirinktam mėginio paėmimo prietaisui / rinkiniui.

Šlapimas

Šlapimą galima laikyti 2–8 °C temperatūroje ne ilgiau kaip 6 valandas. Jei reikia laikyti ilgiau, rekomenduojama jį užšaldyti –20 °C arba –80 °C temperatūroje. Šlapimą galima tirti prieš tai iš anksto neapdorotus. Sistema yra optimizuota gryniems šlapimo mėginiams, kuriuose nėra konservantų. Norint padidinti jautrumą bakteriniams patogenams, mėginius galima centrifuguoti. Pašalinus supernatantą, granulę galima resuspenduoti mažiausiai 400 µl „Buffer ATL“ (ATL) (kat. nr. 939016). Naudokite 400 µl iš anksto apdorotos medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Genominės DNR išskyrimas iš gramteigiamų bakterijų

Kai kurių gramteigiamų bakterijų DNR išgryninimą galima pagerinti atlikus pirminį fermentinį apdorojimą prieš perkeliant mėginį į „QIASymphony SP“ ir pradėdant „Complex400_OBL_V4_DSP“ protokolą.

1. Granuliuokite bakterijas centrifuguodami 5 000 x g 10 min.
2. Suspenduokite bakterijų granulę 400 µl atitinkamo fermento tirpalo (20 mg/ml lizocimo arba 200 µg/ml lizostafino 20 mM Tris·HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % „Triton X-100“).
3. Inkubuokite 37 °C temperatūroje bent 30 min.
4. Trumpai centrifuguokite mėgintuvėlį, kad pašalintumėte lašelius nuo dangtelio vidinės pusės.
5. Naudokite 400 µl iš anksto apdorotos medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Klampūs arba gleivėti mėginiai

Kai kurie mėginiai gali būti klampūs, todėl prieš pipetuoju juos reikia suskystinti. Mažo klampumo mėginių papildomai paruošti nereikia. Vidutinio ir didelio klampumo mėginius reikia paruošti, kaip nurodyta toliau.

1. Paskieskite mėginį 1:1 santykiu su 0,3 % (w/v) ditionitroliu (DTT).
Pastaba. 0,3 % DTT tirpalą galima pasiruošti iš anksto ir laikyti –20 °C temperatūroje atitinkamomis alikvotinėmis dalimis. Atitirpintas alikvotines dalis panaudojus reikia išmesti.
2. Inkubuokite 37 °C temperatūroje, kol mėginio klampumas yra tinkamas pipetuoti.
3. Naudokite 400 µl iš anksto apdorotos medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Išdžiovinti kūno skysčių ir išskyrų tepinėliai

1. Pamerkite išdžiovinto tepinėlio tampono galą į 650 µl „Buffer ATL“ (ATL) (kat. nr. 939016) ir inkubuokite 56 °C temperatūroje 15 min., nuolat maišydami. Jei maišyti neįmanoma, prieš inkubuodami ir baigę inkubuoti bent 10 sek. papurtykite.
2. Ištraukite tamponą ir, prispausdami prie vidinės mėgintuvėlio sienelės pusės, išspauskite iš jo visą skystį.
3. Naudokite 400 µl iš anksto apdorotos medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Pastaba. Šis protokolas optimizuotas medvilniniams arba polietileniniams tamponams. Naudojant kitokius tamponus, norint gauti bent 400 µl mėginio medžiagos, gali tekti koreguoti „Buffer ATL“ (ATL) tūrį.

Kvėpavimo takų arba urogenitaliniai tepinėliai

Urogenitalinius tepinėlius (transportavimo terpėje, pvz., „PreservCyt“, UTM, „eNAT“) ir kvėpavimo takų tepinėlius (išdžiovintus arba transportavimo terpėje, pvz., UTM, „eNAT“) galima laikyti 2–8 °C temperatūroje ne ilgiau kaip 6 valandas. Jei reikia laikyti ilgiau, rekomenduojama juos užšaldyti –20 °C arba –80 °C temperatūroje.

Kvėpavimo takų arba urogenitalinių tepinėlių tamponų laikymo terpę galima naudoti iš anksto neapdorojus. Jeigu tamponas nebuvo išimtas, prispauskite jį prie vidinės mėgintuvėlio sienelės pusės ir išspauskite iš jo visą skystį. Dabar, surenkant ant tampono, iš mėginio reikia pašalinti perteklines gleives. Tuomet, prispaudžiant tamponą prie mėgintuvėlio sienelės, iš gleivių ir tampono reikia išspausti likusį skystį. Galiausiai, tamponą ir gleives reikia išimti ir išmesti. Jei mėginys kampas, prieš perpildami į „QIASymphony SP“ praskieskite jį (žr. skyrių „Klampūs arba gleivėti mėginiai“). Jeigu nepakanka pradinės medžiagos, pipete sulašinkite „Buffer ATL“ (ATL) į transportavimo terpę, kad gautumėte minimalų reikalingą pradinį tūrį, ir purtykite mėginį mėgintuvėlyje 15–30 sekundžių (jeigu transportavimo terpėje yra tamponas, šį veiksmą atlikite prieš išimdami tamponą). Naudokite 400 µl medžiagos kaip mėginį ruošiantis lizei ne prietaise.

Ribojimai ir trukdančios medžiagos

Nestebėta jokiei reikšmingo neigiamo galimai trukdančių medžiagų poveikio (išsamesnė informacija pateikiama atitinkamame efektyvumo charakteristikų dokumente, kurį galima rasti interneto svetainės www.qiagen.com gaminio puslapyje išteklių skirtuke).

Pastaba. Siekiant įvertinti ekstrahuotų nukleorūgščių kokybę, buvo atlikti tyrimai naudojant pavyzdinę pasrovinio pritaikymo procedūrą. Tačiau kitoms pasrovinio pritaikymo procedūroms gali būti keliami kiti reikalavimai dėl grynumo (t. y. galimai trukdančių medžiagų nebuvimo). Todėl kaip pasrovinio pritaikymo procedūros dalį taip pat reikia nustatyti atitinkamų medžiagų atpažinimo ir tyrimo žingsnius, taikytinus kiekvienai darbo eigai, kai naudojami rinkiniai „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit“.





Eliuatų laikymas

Pastaba. Eliuato stabilumas labai priklauso nuo įvairių veiksnių ir yra siejamas su konkrečia pasrovinio pritaikymo procedūra. Tai nustatyta rinkiniams „QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit“, naudojamiems atliekant pavyzdines pasrovinio pritaikymo procedūras. Naudotojas turi pats paskaityti laboratorijoje taikomos konkrečios pasrovinio pritaikymo procedūros naudojimo instrukciją ir (arba) patikrinti visą darbo eigą, kad nustatytų tinkamas laikymo sąlygas.

Jei išgrynintos nukleorūgštys laikomos iki 24 valandų, rekomenduojama 2–8 °C temperatūra. Jei jos laikomos ilgiau kaip 24 valandas, rekomenduojama –20 °C temperatūra.

Simboliai

Toliau nurodyti šiame dokumente vartojami simboliai. Išsamus naudojimo instrukcijoje, ant pakuočių ir etiketėse vartojamų simbolių sąrašas pateikiamas vadove.

Simbolis	Simbolio apibrėžimas
	Šis gaminys atitinka Europos reglamento 2017/746 dėl <i>in vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisų reikalavimus
	<i>In vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisas
	Katalogo numeris
Rn	R – naudojimo instrukcijos peržiūrėtas leidimas, n – peržiūrėto leidimo numeris
	Gamintojas

Peržiūros istorija

Peržiūrėtas leidimas

R1, 2022 birželis

Aprašas

2 versija, 1 peržiūrėtas leidimas

- Atnaujinta 2 versija – pridėta informacijos apie atitiktį IVDR.
- Papildytas skyrius „Mėginio medžiagos paruošimas“.
- Papildytas skyrius „Ribojimai ir trukdančios medžiagos“
- Papildytas skyrius „Eliuatų laikymas“
- Papildytas skyrius „Simboliai“

Naujausia informacija apie licencijavimą ir atsakomybės atsisakymą konkrečių gaminių atžvilgiu pateikiama atitinkamo „QIAGEN®“ rinkinio vadove arba naudotojo vadove. QIAGEN rinkinių vadovai ir naudotojo vadovai pateikiami interneto svetainėje www.qiagen.com arba susisiekus su QIAGEN techninių paslaugų tarnyba ar vietiniu platintoju.

Prekių ženklai: „QIAGEN®“, „Sample to Insight®“, „QIAsymphony®“ (QIAGEN Group); „eNAT™“ („Copan Italia S.P.A.“); „PreservCyt®“ („Hologic, Inc.“); „Sarstedt®“ („Sarstedt AG and Co.“). Šiame dokumente vartojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jeigu jie specialiai nepažymėti, vis tiek yra saugomi įstatymų.
2022-06 HB-3028-S04-001 © QIAGEN, 2022. Visos teisės saugomos.