

lipanj 2022.

# Upute za uporabu kompleta QIAsymphony® DSP Virus/Pathogen Kit (list protokola)

Protokol Complex200\_V6\_DSP

Verzija 2

IVD

Za in vitro dijagnostičku uporabu

Za uporabu s kompletom QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit

CE

REF

937036



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Njemačka

R1

List protokola dostupan je električki i možete ga pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Općenite informacije

Komplet QIAasympathy DSP Virus/Pathogen Kit namijenjen je za in vitro dijagnostičku uporabu.

<b>Komplet</b>	QIAasympathy DSP Virus/Pathogen Mini Kit
<b>Materijal uzorka</b>	Uzorci respiratornog i urogenitalnog trakta
<b>Naziv protokola</b>	Complex200_V6_DSP
<b>Standardni kontrolni komplet za ispitivanje</b>	ACS_Complex200_V6_DSP_default_IC
<b>Moguće urediti</b>	Volumen eluata: 60, 85 i 110 µl
<b>Potrebna verzija softvera</b>	Verzija 4.0 ili novija
<b>Potrebna konfiguracija softvera za IVD uporabu</b>	Zadani profil 1

## Ladica „Sample” (Uzorak)

<b>Vrsta uzorka</b>	Urin, brisovi urogenitalnog trakta (u transportnom mediju, npr. PreservCyt®, UTM, eNAT™) i brisovi respiratornog trakta (osušeni brisovi ili brisovi u transportnom mediju, npr. ÚTM, eNAT)
<b>Volumen uzorka</b>	Ovisi o vrsti epruvete za uzorce koja se upotrebljava; za više informacija pogledajte popis laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a>
<b>Volumen obrađenog uzorka</b>	Za više informacija pogledajte popis laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a>
<b>Primarne epruvete za uzorke</b>	Za više informacija pogledajte popis laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a>
<b>Sekundarne epruvete za uzorke</b>	Ovisi o vrsti epruvete za uzorce koja se upotrebljava; za više informacija pogledajte popis laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a>
<b>Umeci</b>	Ovisi o vrsti epruvete za uzorke koja se upotrebljava; za više informacija pogledajte popis laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a>
<b>Ostalo</b>	Potrebna je mješavina nosača RNA i pufera Buffer AVE; uporaba interne kontrole je optionalna

## Ladica „Reagents and Consumables” (Reagensi i potrošni materijal)

<b>Pozicija A1 i/ili A2</b>	Uložak reagensa (Reagent Cartridge, RC)
<b>Pozicija B1</b>	Pufer Buffer ATL (ATL)
<b>Držać nosača vršaka 1 – 17</b>	Jednokratni vršci filtera, 200 µl
<b>Držać nosača vršaka 1 – 17</b>	Jednokratni vršci filtera, 1500 µl
<b>Držać kutije jedinice 1 – 4</b>	Kutije jedinica koje sadržavaju uloške za pripremu uzorka
<b>Držać kutije jedinice 1 – 4</b>	Kutije jedinica koje sadržavaju 8-Rod Covers

## Ladica „Waste” (Otpad)

<b>Držać kutije jedinice 1 – 4</b>	Prazne kutije jedinica
<b>Držać vrećice za otpad</b>	Vrećica za otpad
<b>Držać boce za tekući otpad</b>	Boca za tekući otpad

## Ladica „Eluate” (Eluat)

### Nosač za eluciju (preporučujemo upotrebu utora 1, položaj za hlađenje)

Za više informacija pogledajte popis laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Potreban plastični pribor

Plastični pribor	Jedna serija 24 uzorka*	Dvije serije 48 uzoraka*	Tri serije 72 uzorka*	Četiri serije 96 uzoraka*
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

\* Za upotrebu više od jedne interne kontrole po seriji i izvođenje više od jednog skeniranja uzorka potrebni su dodatni jednokratni vršci filtara. Upotreboru manje od 24 uzorka po seriji smanjuje se broj jednokratnih vršaka filtara koji su potrebni po postupku.

† Na nosaču vršaka nalaze se 32 vrška filtara.

‡ Broj potrebnih vršaka uključuje vrške filtara za 1 skeniranje uzorka po ulošku reagensa (Reagent Cartridge, RC).

§ Jedinica kutije sadržava 28 uložaka za pripremu uzorka.

¶ Jedinica kutije sadržava dvanaest poklopaca 8-Rod Covers.

**Napomena:** brojevi vršaka filtara mogu se razlikovati od brojeva prikazanih na zaslonu osjetljivom na dodir ovisno o postavkama. Mi preporučujemo postavljanje najvišeg mogućeg broja vršaka.

## Odabrani volumen elucije

Odabrani volumen elucije (µl)*	Početni volumen elucije (µl)†
60	90
85	115
110	140

\* Volumen elucije odabran na zaslonu osjetljivom na dodir. To je najmanji dostupni volumen eluata u epruveti za konačnu eluciju.

† Početni volumen otopine za eluciju potreban kako bi se osiguralo da je stvarni volumen eluata jednak odabranom volumenu.

## Priprema mješavine interne kontrole, nosača RNA (CARRIER) i pufera Buffer AVE (AVE)

Odabrani volumen elucije (µl)	Volumen koncentrata nosača RNA (CARRIER) (µl)	Volumen interne kontrole (µl)*	Volumen pufera Buffer AVE (AVE) (µl)	Konačni volumen po uzorku (µl)
60	3	9	108	120
85	3	11,5	105,5	120
110	3	14	103	120

\* Izračun količine interne kontrole temelji se na početnim volumenima elucije. Dodatan prazan volumen ovisi o vrsti epruvete za uzorke koja se upotrebljava; za više informacija pogledajte popis laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

**Napomena:** vrijednosti prikazane u tablici odnose se na pripremanje mješavine interne kontrole i nosača RNA (CARRIER) za ispitivanje koje slijedi i za koje je potrebno 0,1 µl interne kontrole / µl eluata.

Epruvete koje sadržavaju mješavinu interne kontrole, nosača RNA (CARRIER) i pufera Buffer AVE (AVE) postavljaju se u nosač epruveta. Nosač epruveta koji sadržava mješavinu/mješavine interne kontrole, nosača RNA (CARRIER) i pufera Buffer AVE (AVE) mora biti postavljen u utor A ladice za uzorke.

Ovisno o broju uzoraka koje je potrebno obraditi, preporučujemo uporabu epruveta od 2 ml (Sarstedt<sup>®</sup>, kat. br. 72.693 ili 72.694) ili polistirenskih epruveta sa zaobljenim dnom od 14 ml veličine 17 x 100 mm (BD<sup>TM</sup>, kat. br. 352051) za razrjeđivanje interne kontrole, kako je opisano u tablici u nastavku. Volumen se može podijeliti na 2 ili više epruveta.

## Izračun volumena mješavine interne kontrole

Vrsta epruvete	Naziv na zaslonu osjetljivom na dodir QIAsymphony	Izračun volumena mješavine interne kontrole, nosača RNA (CARRIER) i pufera Buffer AVE (AVE) po epruveti
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted, (Sarstedt, kat. br. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	(n x 120 µl) + 360 µl*
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted, (Sarstedt, kat. br. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	(n x 120 µl) + 360 µl*
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD <sup>®</sup> , kat. br. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	(n x 120 µl) + 600 µl†

\* Upotrijebite ovu jednadžbu za izračun potrebnog volumena mješavine interne kontrole (n = broj uzoraka; 120 µl = volumen mješavine interne kontrole, nosača RNA (CARRIER) i pufera Buffer AVE (AVE); 360 µl = potreban prazan volumen po epruveti). Na primjer, za 12 uzoraka (n = 12): (12 x 120 µl) + 360 µl = 1800 µl. Nemojte napuniti epruvetu s više od 1,9 ml (tj., maksimalno 12 uzoraka po epruveti). Ako će se obradivati više od 12 uzoraka, upotrijebite dodatne epruvete kako biste osigurali dodavanje pravnog volumena po epruveti.

† Upotrijebite ovu jednadžbu za izračun potrebnog volumena mješavine interne kontrole, nosača RNA (CARRIER) i pufera Buffer AVE (AVE) (n = broj uzoraka; 120 µl = volumen mješavine interne kontrole, nosača RNA (CARRIER) i pufera Buffer AVE (AVE); 600 µl = potreban prazan volumen po epruveti). Na primjer, za 96 uzoraka (n = 96): (96 x 120 µl) + 600 µl = 12.120 µl.

§ Prethodni dobavljač ove epruvete bila je tvrtka BD, a sada je to tvrtka Corning Inc.

Za potrebne umetke pogledajte popis laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Upotreba laboratorijskih proizvoda FIX

Upotreba detekcije razine tekućine (Liquid-Level Detection, LLD) za prijenos uzorka omogućuje upotrebu primarnih i sekundarnih epruveta. Međutim, to zahtijeva određeni mrtvi volumen u dotičnim epruvetama. Kako bi se mrtvi volumeni sveli na najmanju moguću mjeru, sekundarne epruvete trebaju se upotrebljavati bez detekcije razine tekućine. Dostupni su određeni laboratorijski proizvodi FIX (npr., SAR\_FIX\_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), što je također moguće odabrati na zaslonu osjetljivom na dodir proizvoda QIAsymphony SP. Ta vrsta epruvete/nosača nameće ograničenja tijekom aspiriranja. Uzorak se aspirira na određenu visinu u epruveti koja je definirana volumenom uzorka koji je potrebno prenijeti. Stoga je nužno osigurati da se upotrebljava volumen naveden na popisu laboratorijskih proizvoda. Popis laboratorijskih proizvoda dostupan je za preuzimanje na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) pod karticom s resursima na stranici proizvoda.

Epruvete za uzorce koja se može upotrebljavati s detekcijom razine tekućine ili bez nje te potrebni volumeni uzorka također su navedeni na popisu laboratorijskih proizvoda koji je dostupan na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) pod karticom s resursima na stranici proizvoda. Nemojte upotrebljavati volumene koji su veći ili manji od potrebnog volumena jer to može dovesti do pogrešaka tijekom pripreme uzorka.

Epruvete za detekciju razine tekućine i epruvete koje nisu namijenjene za detekciju razine tekućine mogu se obrađivati u okviru jedne serije/obrade.

## Priprema materijala uzorka

Kad radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS) dostupnima kod dobavljača proizvoda.

Sprječite stvaranje pjene u uzorcima ili na njima. Ovisno o početnom materijalu, možda će biti potrebna prethodna obrada uzorka. Prije pokretanja postupka uzorke je potrebno izjednačiti sa sobnom temperaturom (15 – 25 °C).

**Napomena:** stabilnost uzorka u velikoj mjeri ovisi o raznim čimbenicima i povezana je sa specifičnim postupcima daljnje obrade. Utvrđena je za komplete QIAasympathy DSP Virus/Pathogen Kit u kombinaciji s modelom postupaka daljnje obrade. Odgovornost je korisnika da prouče upute za uporabu specifičnih postupaka daljnje obrade koji se upotrebljavaju u njihovom laboratoriju i/ili da provjere valjanost cijelog tijeka rada kako bi utvrdili odgovarajuće uvjete pohrane.

Općenite preporuke za prikupljanje, transport i pohranu potražite u odobrenoj smjernici MM13-A „Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods” (Prikupljanje, transport, priprema i pohrana ispitaka za molekularne metode) instituta CLSI. Osim toga, tijekom pripreme uzorka, njegove pohrane, prijevoza i općenitog rukovanja potrebno je pridržavati se uputa proizvođača za odabrani pribor/komplet za prikupljanje uzorka.

## Urin

Urin se može pohraniti na 2 – 8 °C do 6 sati. Za dulju pohranu preporučujemo zamrzavanje na –20 °C ili –80 °C. Urin se može obraditi bez daljnje prethodne obrade. Uzorak prenesite u epruvetu Sarstedt od 2 ml (kat. br. 72.693 ili 72.694) te stavite uzorak u nosač epruveta. Umjesto navedenih možete upotrebljavati primarne epruvete. Potreban minimalni početni volumen može se razlikovati ovisno o primarnoj epruveti koja se upotrebljava. Kompatibilni oblici primarnih i sekundarnih epruveta, uključujući minimalni početni volumen potreban za svaki protokol, navedeni su na popisu laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Sustav je optimiran za uzorce čistog urina koji ne sadrže konzervanse. Da bi se povećala osjetljivost na bakterijske patogene, uzorci se mogu centrifugirati. Nakon što bacite supernatant, talog možete resuspendirati u najmanje 300 µl pufera Buffer ATL (ATL) (kat. br. 939016). Prenesite 220 µl uzorka u epruvetu Sarstedt od 2 ml (kat. br. 72.693 ili 72.694). Stavite uzorak u nosač epruveta i obradite uzorak primjenom protokola Complex200\_V6\_DSP i potrebnih laboratorijskih proizvoda FIX.

## Izolacija genomske DNK iz gram-pozitivnih bakterija

Pročišćavanje DNK za neke gram-pozitivne bakterije može se poboljšati enzimskom prethodnom obradom prije prijenosa uzorka u QIAasympathy SP i pokretanja protokola Complex200\_V6\_DSP.

1. Centrifugirajte bakterije na 5000 x g 10 minuta da biste dobili talog.
2. Suspendirajte bakterijski talog u 300 µl odgovarajuće enzimske otopine (20 mg/ml lizozima ili 200 µg/ml lizostafina u 20 mM Tris HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2 % Triton X-100).
3. Inkubirajte na 37 °C najmanje 30 minuta.
4. Kratko centrifugirajte epruvetu kako biste uklonili kapljice iz unutarnje strane poklopca.
5. Uzorak prenesite u epruvetu Sarstedt od 2 ml (kat. br. 72.693 ili 72.694) te stavite uzorak u nosač epruveta i nastavite s protokolom Complex200\_V6\_DSP primjenom laboratorijskih proizvoda FIX.

## Viskozni ili sluzavi uzorci

Neki uzorci mogu biti viskozni te je za njih potrebno ukapljivanje kako bi se omogućilo pipetiranje. Za uzorce niske viskoznosti nije potrebna dodatna priprema. Uzorce srednje do visoke viskoznosti potrebno je pripremiti na sljedeći način:

1. Razrijedite uzorak u omjeru 1:1 s 0,3 % (w/v) ditiotreitolom (Dithiothreitol, DTT).

**Napomena:** otopina 0,3 % (w/v) DTT-a može se pripremiti unaprijed i pohraniti u alikvotima na –20 °C. Odmrznute alikvote nakon uporabe odložite u otpad.

2. Inkubirajte na 37 °C dok viskoznost uzorka ne bude odgovarajuća za pipetiranje.
3. Prenesite najmanje 300 µl uzorka u epruvetu Sarstedt od 2 ml (kat. br. 72.693 ili 72.694). Obradite uzorak primjenom protokola Complex200\_V6\_DSP.

## Štapići za uzimanje brisa s osušenom tjelesnom tekućinom i iscjetkom

1. Uronite osušeni vrh štapića za uzimanje brisa u 550 µl pufera Buffer ATL (ATL) (kat. br. 939016) i inkubirajte na 56 °C 15 minuta uz neprestano miješanje. Ako miješanje nije moguće, miješajte na vorteks miješalici najmanje 10 sekundi prije i nakon inkubacije.
2. Izvadite štapić za uzimanje brisa i istisnite svu tekućinu tako da štapić pritisnete o unutrašnjost epruvete.
3. Prenesite najmanje 300 µl uzorka u epruvetu Sarstedt od 2 ml (kat. br. 72.693 ili 72.694). Obradite uzorak s pomoću protokola Complex200\_V6\_DSP.

**Napomena:** protokol je optimiran za pamučne ili polietilenske štapiće za uzimanje brisa. Kada upotrebljavate druge štapiće za uzimanje brisa, možda će biti potrebno prilagoditi volumen pufera Buffer ATL (ATL) kako bi se osiguralo da je dostupno najmanje 300 µl materijala uzorka.

## Brisovi respiratornog ili urogenitalnog trakta

Brisovi urogenitalnog trakta (u transportnom mediju, npr. PreservCyt, UTM, eNAT) i brisovi respiratornog trakta (osušeni brisovi ili brisovi u transportnom mediju, npr. UTM, eNAT) mogu se pohraniti na 2 – 8 °C do 6 sati. Za dulju pohranu preporučujemo zamrzavanje na –20 °C ili –80 °C.

Mediji za pohranu brisova respiratornog ili urogenitalnog trakta mogu se upotrebljavati bez prethodne obrade. Ako štapić za uzimanje brisa niste izvadili, pritisnite štapić o stijenu epruvete da biste istisnuli tekućinu. Svaki višak sluzi u ispitku potrebno je ukloniti u ovom trenutku tako što ćete ga prikupiti štapićem za uzimanje brisa. Svaku preostalu tekućinu iz sluzi i štapića tada bi trebalo istisnuti pritiskom štapića o stijenu epruvete. Na kraju je štapić za uzimanje brisa i sluz potrebno ukloniti i odložiti u otpad. Ako su uzorci viskozni, provedite korak ukapljivanja (pogledajte odjeljak „Viskozni ili sluzavi uzorci“) prije prijenosa uzorka u QIAAsymphony SP. Ako nema dostatnog volumena početnog materijala, pipetirajte pufer Buffer ATL (ATL) u transportni medij da biste prilagodili potreban minimalni početni volumen te promiješajte uzorak u epruveti na vorteks miješalici 15 – 30 sekundi (ako transportni medij sadrži štapić za uzimanje brisa, ovaj korak provedite prije uklanjanja štapića). Uzorak prenesite u epruvetu Sarstedt od 2 ml (kat. br. 72.693 ili 72.694) te stavite uzorak u nosač epruveta. Umjesto navedenih možete upotrebljavati primarne epruvete. Potreban minimalni početni volumen može se razlikovati ovisno o primarnoj epruveti koja se upotrebljava. Kompatibilne primarne i sekundarne epruvete, kao i najmanji početni volumen potreban za svaki protokol, navedeni su na popisu laboratorijskih proizvoda koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Ograničenja i interferirajuće tvari

Nije uočen značajan negativan učinak potencijalnih interferirajućih tvari (za pojedinosti pogledajte odgovarajući dokument Radne značajke koji možete pronaći na kartici s resursima na stranici proizvoda na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

**Napomena:** testiranje je provedeno s pomoću modela postupaka daljnje obrade radi procjene kvalitete ekstrahiranih nukleinskih kiselina. Međutim, drugi postupci daljnje obrade mogu imati drugačije zahtjeve u pogledu čistoće (tj. odsutnosti potencijalnih interferirajućih tvari) pa se identifikacija i testiranje odgovarajućih tvari također moraju utvrditi kao dio razvoja postupaka daljnje obrade za bilo koji tijek rada koji uključuje komplete QIAasympathy DSP Virus/Pathogen Kit.

## Pohrana eluata

**Napomena:** stabilnost eluata u velikoj mjeri ovisi o raznim čimbenicima i povezana je sa specifičnim postupcima daljnje obrade. Utvrđena je za komplete QIAasympathy DSP Virus/Pathogen Kit u kombinaciji s modelom postupaka daljnje obrade. Odgovornost je korisnika da prouče upute za uporabu specifičnih postupaka daljnje obrade koji se upotrebljavaju u njihovom laboratoriju i/ili da provjere valjanost cijelog tijeka rada kako bi utvrdili odgovarajuće uvjete pohrane.

Za kratkotrajnu pohranu do 24 sata preporučujemo pohranu pročišćenih nukleinskih kiselina na 2 – 8 °C. Za dugotrajnu pohranu dulju od 24 sata preporučujemo pohranu na –20 °C.

## Simboli

Sljedeći simboli pojavljuju se u ovom dokumentu. Za cijeloviti popis simbola koji se upotrebljavaju u uputama za uporabu ili na pakiranju i naljepnicama pogledajte priručnik.

Simbol	Definicija simbola
	Ovaj proizvod ispunjava zahtjeve Uredbe (EU) 2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima.
	In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Kataloški broj
Rn	R se odnosi na reviziju uputa za uporabu, a n je broj revizije
	Proizvođač

## Povijest revizija

Revizija	Opis
R1, lipanj 2022.	<p>Verzija 2, revizija 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Ažuriranje na verziju 2 radi usklađivanja s Uredbom o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima (IVDR)</li><li>• Proširenje odjeljka Priprema materijala uzorka</li><li>• Dodavanje odjeljka Ograničenja i interferirajuće tvari</li><li>• Dodavanje odjeljka Pohrana eluata</li><li>• Dodavanje odjeljka Simboli</li></ul>

Ažurirane informacije o licenciranju i izjave o odricanju odgovornosti specifične za proizvod pogledajte u odgovarajućem priručniku za komplet ili korisničkom priručniku QIAGEN®. Priručnici za komplete i korisnički priručnici QIAGEN dostupni su na web-mjestu [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ili ih možete zatražiti od tehničke službe tvrtke QIAGEN ili vašeg lokalnog distributera.

Zaštitni znakovi: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAxSymphony® (grupa QIAGEN), BD™ (Becton Dickinson and Company); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); PreservCyt® (Hologic, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Registrirani nazivi, zaštitni znakovi itd. upotrijebljeni u ovom dokumentu, čak i ako nisu posebno označeni kao takvi, ne smiju se smatrati zakonski nezaštićenima.  
06/2022 HB-3028-S01-001 © 2022 QIAGEN, sva prava pridržana.