

Настройка автоматизированного ОТ ПЦР для тестирования COVID-19

Вступление

Появление и распространение нового коронавируса SARS-CoV-2 (COVID-19) поставили беспрецедентные по объему задачи по лабораторному тестированию COVID-19, в результате чего научный персонал борется со стремительно растущим потоком образцов и быстрым и постоянным увеличением рабочей нагрузки. Лаборатории нуждаются в дополнительных автоматизированных инструментах для работы с жидкостями для экстракции нуклеиновой кислоты вируса и установкой ОТ-ПЦР, наиболее трудоемкими

стадиями в процессе диагностического тестирования это увеличит производительность процесса, уменьшит влияние «человеческого фактора» на проведение анализа, и, в целом, ускорит проведение тестирования COVID-19.

Робот для пипетирования ASSIST PLUS вместе с пипеткой VOYAGER с регулируемым расстоянием до наконечников, наконечниками GripTips с низким удержанием (Low Retention GripTips) и 10 мл резервуарами для реагентов с покрытием SureFlo™ были успешно использованы для организации ОТ-ПЦР в лабораториях тестирования COVID-19.

Основные преимущества:

- Полная автоматизация с помощью робота для пипетирования ASSIST PLUS уменьшает количество операций, производимых вручную и освобождает лабораторному персоналу очень ценное время, которого критически не хватает в условиях пандемии COVID-19..
- Компактный и простой в использовании робот-дозатор ASSIST PLUS быстро настраивается и программируется, что позволяет лаборатории быстро увеличить производительность и повысить скорость проведения анализов на COVID-19.
- Пипетки VOYAGER с регулируемым расстоянием до наконечников в сочетании с роботом для пипетирования ASSIST PLUS обеспечат Вам наилучшую эргономику пипетирования,

автоматически изменив формат анализируемых образцов, перенеся их из обычных штативов для пробирок в 384-луночные планшеты.

- Оптимальные настройки пипетки, включая настройку глубины погружения наконечника, скорости и угла пипетирования, обеспечивают воспроизводимые и точные результаты без загрязнения контрольных и отобранных у пациентов образцов.
- Использование 10 мл резервуаров с реагентами INTEGRA с покрытием SureFlo с минимальным мертвым объемом вместе с наконечниками GripTips с низким удержанием продемонстрировали превосходные результаты, позволяющие эффективно работать с дорогостоящими одностадийными тестами ОТ-ПЦР Mastermix, которые используются для тестирования пациентов.

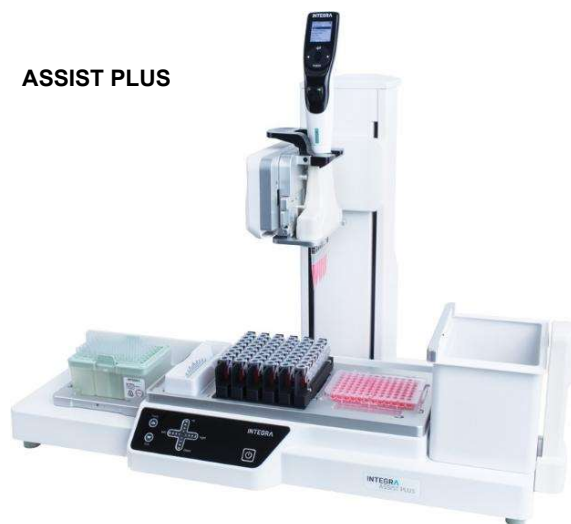
Процедура шаг за шагом:

Настройка эксперимента

Робот для пипетирования ASSIST PLUS используется для автоматического тестирования проб с подозрением на COVID-19 в планшете с 384 лунками. Робот для пипетирования использует дозатор VOYAGER с 12 каналами по 50 мкл со стерильными фильтрующими 125 мкл наконечниками GripTips с низким удержанием. Чтобы удвоить производительность тестирования и одновременно снизить стоимость одного теста, уменьшив расход дорогостоящих и все менее доступных реагентов для одностадийной ОТ-ПЦР, общий объем реакции ПЦР минимизирован, уменьшен до 10 мкл, включая 7,5 мкл реагента Mastermix для одностадийной ОТ-ПЦР и 2,5 мкл препарата нуклеиновой кислоты. Препараты были экстрагированы из комбинированных мазков из носоглотки/ротоглотки или образцов мокроты.

Следующая процедура основана на протоколе, который используется отделом микробиологии и молекулярной патологии в Sullivan Nicolaides Pathology (SNP), часть Sonic Healthcare Group - в Брисбене, Австралия ASSIST_PLUS_SNP_V00

ASSIST PLUS



Протокол разделен на две программы пипетирования.

Обзор стадий пипетирования и соответствующих программ:

Программа 1: Добавление реагента Mastermix (1-COVID-19)

Программа 2: Добавление препарата нуклеиновой кислоты (2-COVID-19)

Добавление **Mastermix**

Стадия: Наполнение планшета с 384 лунками реагентом Mastermix для проведения одностадийного ОТ-ПЦР

КАК ЭТО СДЕЛАТЬ: Поместите реагент Mastermix для одностадийного ОТ-ПЦР в 10 мл стерильный полистирольный резервуар для реагентов с покрытием SureFlo, препятствующим прилипанию, от INTEGRA. Установите платформу с необходимым лабораторным оборудованием, как показано на рисунке 1. Выберите программу VIALAB 1-COVID-19. Пипетка VOYAGER автоматически переносит прикосновением наконечника реагент Mastermix из резервуара в 384-луночный планшет (многолуночный планшет LightCycler® 480, Roche), используя режим повторяющегося дозирования (Repeat Dispense Mode). Каждая лунка планшета заполняется 7,5 мкл Mastermix.

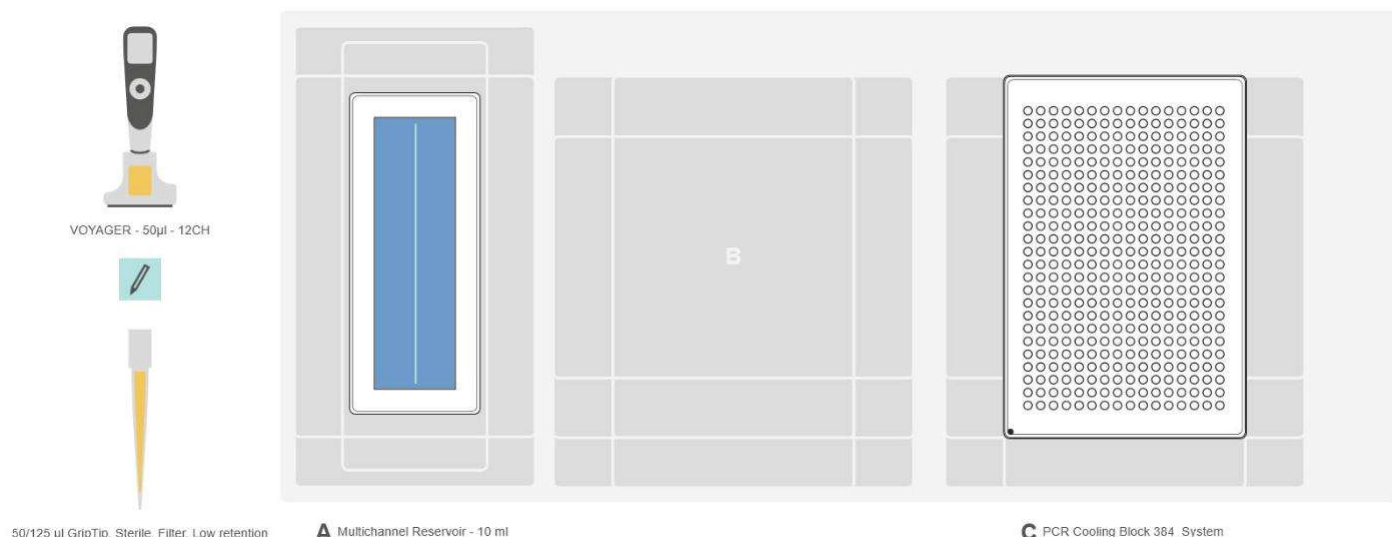


Рисунок 1: Схема программы 1-COVID-19. **Положение А:** 10 мл резервуар для реагентов с покрытием SureFlo, предотвращающем слипание реагента, содержащий 3 мл реагента Mastermix для одностадийной ОТ-ПЦР. **Положение С:** планшет с 384 лунками, помещенный на блок охлаждения, который позволяет сохранять реагент Mastermix и образцы холодными и обеспечивает точное позиционирование ПЦР-планшета на платформе.

Замечания:

- Использование 10 мл резервуаров для реагентов с покрытием SureFlo, которое препятствует их прилипанию, обеспечивает очень малый мертвый объем (<20 мкл) и минимизирует затраты дорогостоящего реагента, который становится все менее доступен (см. Рис. 2).
- Сочетание низкой скорости пипетирования - установите на 2 – и наконечников GripTips с низким удержанием показывает отличные результаты при пипетировании вязкого и вспенивающегося реагента Mastermix.
- Настройки до и после дозирования вместе с опцией касания наконечника гарантируют воспроизводимые, достоверные и точные результаты дозирования (см. Рис. 2).
- Блок охлаждения ПЦР используется в качестве опоры для фиксации 384-луночного планшета на платформе, обеспечивая точное позиционирование наконечника при пипетировании. Блок охлаждения также помогает сохранять образцы и реагенты в охлажденном состоянии, если это требуется по протоколу.



Рисунок 2: Точное и аккуратное дозирование реагента Mastermix для одностадийной ОТ-ПЦР из резервуара для реагентов с малым мертвым объемом в планшет с 384 лунками.

2. Добавление матрицы нуклеиновой кислоты

Стадия: Перенос образцов из четырех стоек с 96-образцами в планшет с 384 лунками.

КАК ЭТО СДЕЛАТЬ: Препараты нуклеиновых кислот, извлеченные из комбинированных мазков из носоглотки/ротоглотки или образцов мокроты, хранят в 0,7 мл пробирках FluidX Cluster, помещенных в стойку с 96-образцами. Пипетка VOYAGER переносит 2,5 мкл препараты из пробирок в 384-луночный планшет, автоматически меняя наконечники GripTip на пипетке после каждого дозирования. Оба положения A и B используются для размещения образцов на платформе (см. Рисунок 3). Пипетка сообщает пользователю, когда наступает время менять штатив для пробирок на платформе. После подтверждения пользователем, пипетка VOYAGER продолжает перенос образцов из пробирок в планшет..

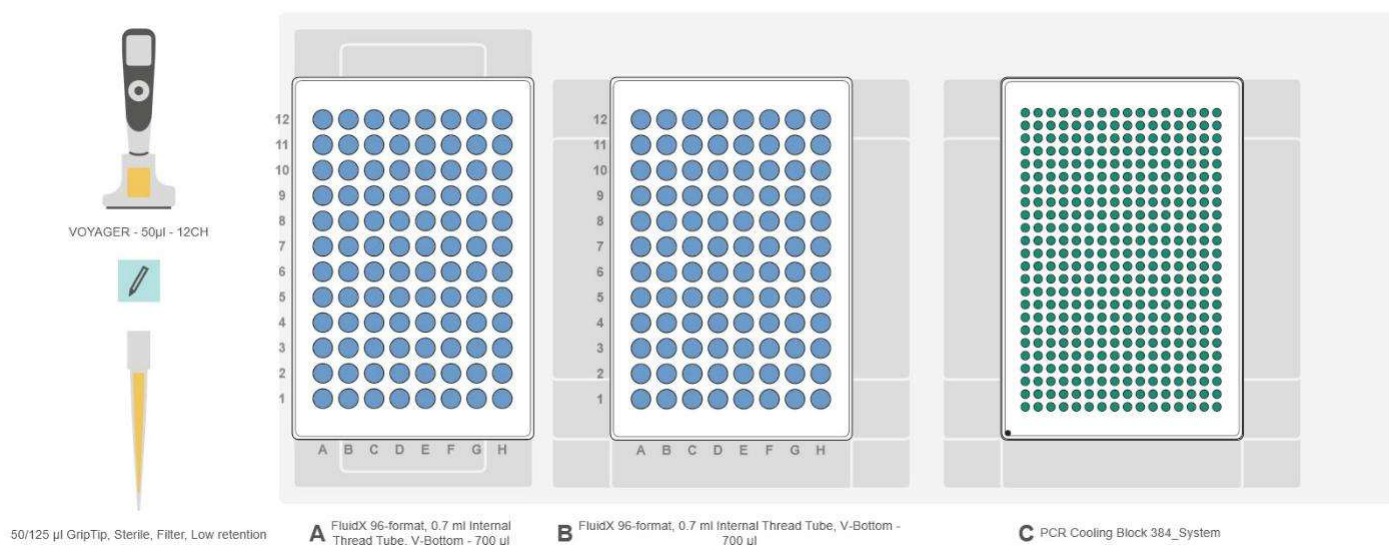


Рисунок 3: Схема программы 2-COVID-19. **Положения А и В:** пробирки FluidX Cluster 0,7 мл, содержащие препараты нуклеиновых кислот. Пробирки хранятся в стойке по 96 штук в каждой. Всего по протоколу используется четыре стойки (две в положении А и две в положении В). **Положение С:** 384-луночный планшет, размещенный на блоке охлаждения (PCR 384 well cooling block)

Замечания:

- Возможность регулировки расстояния до наконечника пипетки VOYAGER в сочетании с автоматической заменой наконечника обеспечивает простой и быстрый перенос пробы без риска загрязнения или ошибок, связанных с изменением формата.
- Наличие 1,5 мкл воздушного зазора при аспирации препарата вирусной нуклеиновой кислоты исключает риск загрязнения наконечника пипетки в процессе перемещения.

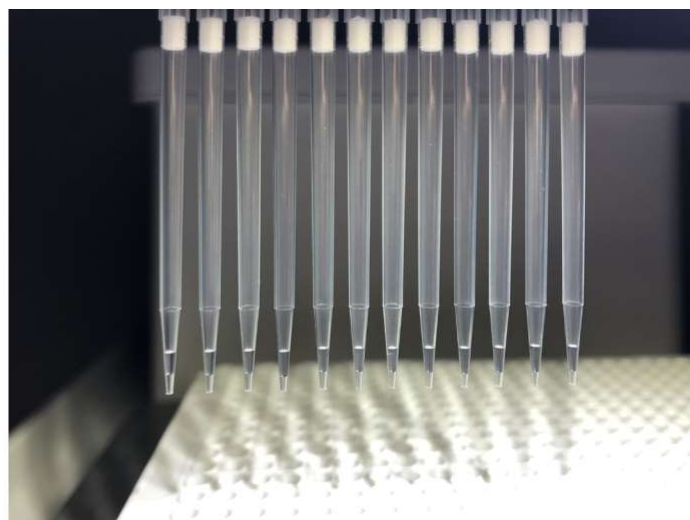
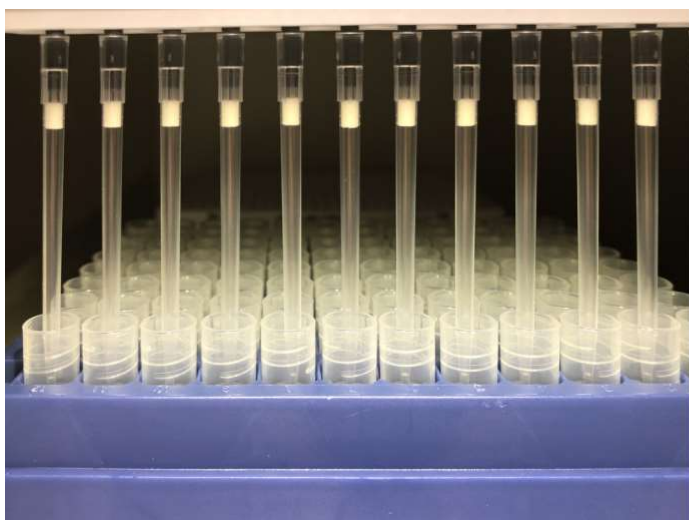


Рисунок 4: Простой и быстрый перенос проб препаратов нуклеиновых кислот пациентов из штатива с пробирками в планшет с 384 лунками, используя электронную пипетку VOYAGER с возможностью регулировки расстояния до наконечника в сочетании с роботом для пипетирования ASSIST PLUS.

Внимание: Автоматическое тестирование ОТ ПЦР-на COVID-19 с использованием робота для пипетирования ASSIST PLUS может также проводиться с использованием электронной пипетки VOYAGER на 8 каналов по 50 мкл (см. рис. 5).

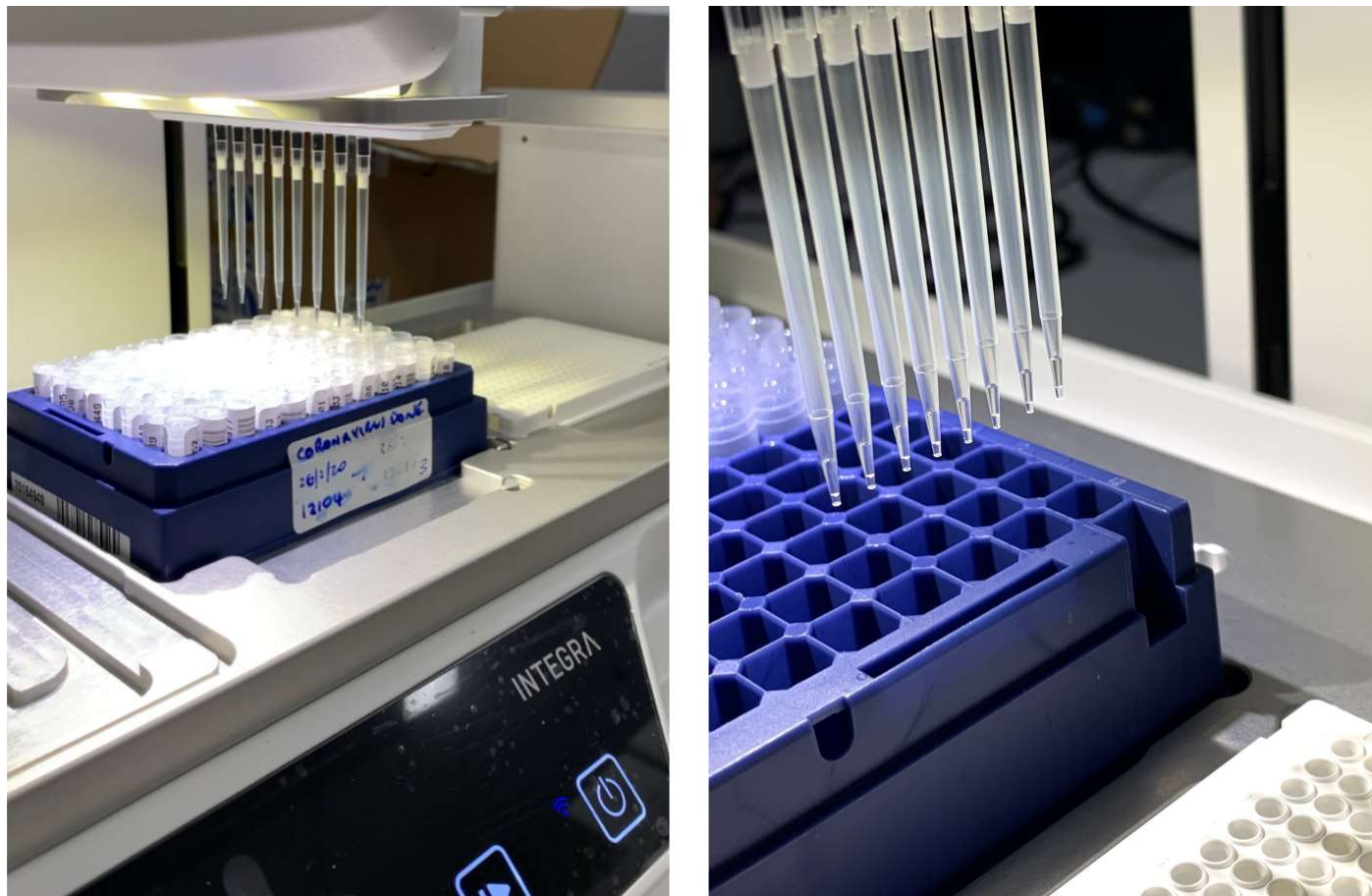


Рисунок 5: Автоматическое тестирование ОТ ПЦР-на COVID-19 с использованием робота для пипетирования ASSIST PLUS с 8-канальной пипеткой VOYAGER с регулируемым расстоянием между наконечниками, выполненное в отделе микробиологии и молекулярной патологии SNP.

Замечания

: 4 местная платформа (4 Position Portrait Deck): Если ваш процесс позволяет, протокол может быть скомпилирован в одну простую программу с использованием опции ASSIST PLUS - 4-местная платформа (см. Рисунок 6).

Планшет с 96 лунками: Протокол может быть легко адаптирован к формату на 96 лунок.

Программное обеспечение VIALAB: Программы VIALAB могут быть легко адаптированы к программному обеспечению Вашей лаборатории и действующим протоколам.

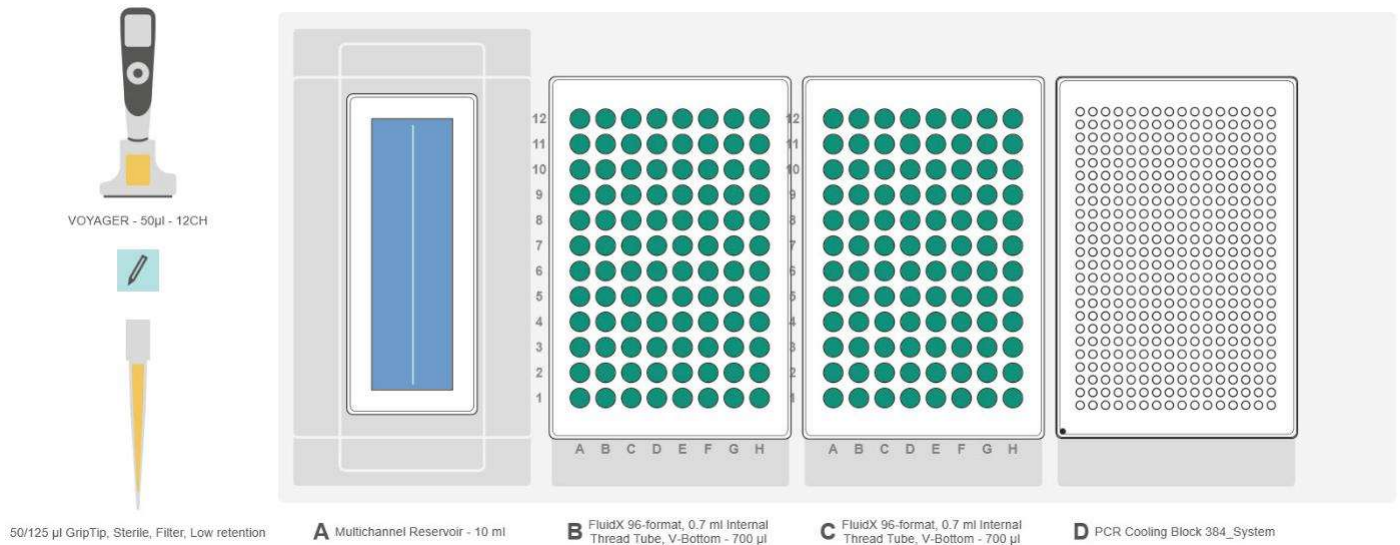


Рисунок 6: Пример установки с четырехместной платформой- при объединении программ 1-COVID-19 и 2-COVID-19 в одну программу.

Выводы

В условиях глобальной пандемии, когда лаборатории испытывают все больше перегрузок в связи с необходимостью анализа все большего и большего количества проб для подтверждения диагноза COVID-19, испытательные лаборатории сразу могут извлечь выгоду из преимуществ робота для пипетирования ASSIST PLUS, который позволит им увеличить производительность обработки проб..

- Результаты пипетирования были воспроизводимыми, точными и точными, без загрязнения как контрольных, так и образцов пациентов.
Робот-дозатор ASSIST PLUS вместе с пипеткой VOYAGER с возможностью регулировки расстояния до наконечника увеличивает производительность обработки образцов, снижает потребность вмешательстве в ручном режиме со стороны лабораторного персонала и ускоряет проведение анализов для тестирования COVID-19
- Наконечники с низким удержанием и резервуар для реагентом с покрытием SureFlo и малым мертвым объемом позволяют сократить расход дорогостоящих реагентов, таких как Mastermix для одностадийного ОТ ПЦР..
- Простой и быстрый робот-дозатор ASSIST PLUS в сочетании с простым в использовании программным обеспечением VIALAB может оказать немедленную помощь лабораториям тестирования.
- Хотя в текущем протоколе используются 384-луночные планшеты, его можно легко адаптировать к 96-луночному формату, если это потребуется в будущем.
- Благодаря программному обеспечению VIALAB программы пипетирования можно легко адаптировать к любым конкретным протоколам и лабораторному оборудованию.

