

Istruzioni per l'uso (scheda del protocollo) QIAsymphony[®] DSP DNA Mini Kit

Protocollo VirusBlood200_V5_DSP

Versione 2

IVD

Per uso diagnostico in vitro

Da utilizzare con QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)

CE

REF

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1

La scheda del protocollo è disponibile in formato elettronico e si trova nella scheda risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com.

Informazioni generali

Il QIAasymphony DSP DNA Kit è studiato per l'uso diagnostico in vitro.

Questo protocollo è previsto per la purificazione del DNA virale da sangue umano intero fresco utilizzando il QIAasymphony SP e il QIAasymphony DSP DNA Mini Kit. Il DNA di virus rilasciati e di virus cellulo-associati viene copurificato assieme al DNA genomico dalle cellule ematiche.

Kit	QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (n. cat. 937236)
Materiale campione	Sangue umano intero (trattato con anticoagulante EDTA o citrato)
Nome del protocollo	VirusBlood200_V5_DSP
Set di controllo dell'esame predefinito	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Parte modificabile	Volume di eluizione: 60, 85, 110 e 165 µl
Versione software richiesta	Versione 4.0 o superiore
Configurazione software richiesta per uso IVD	Profilo di default 1

Materiali necessari ma non in dotazione

Per la preparazione della miscela di controllo interno-Buffer ATE

- provetta per campioni da 2 ml (Sarstedt® n. cat. 72.693, senza base)
- provetta per campioni da 2 ml (Sarstedt n. cat. 72.694, con base)
- Provetta a fondo tondo in polistirene Falcon da 14 ml BD™ (n. cat. 352051)

Cassetto "Sample" (Campione)

Tipo di campione	Sangue umano intero (trattato con anticoagulante EDTA, citrato o eparina)
Volume del campione	Dipende dal tipo di provetta utilizzata; per ulteriori informazioni, consultare l'elenco dei materiali da laboratorio nella scheda risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com .
Provette per campioni primarie	Per ulteriori informazioni, consultare l'elenco dei materiali da laboratorio disponibile nella scheda risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com .
Provette per campioni secondarie	Per ulteriori informazioni, consultare l'elenco dei materiali da laboratorio disponibile nella scheda risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com .
Inseriti	Dipende dal tipo di provetta utilizzata; per ulteriori informazioni, consultare l'elenco dei materiali da laboratorio nella scheda risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com .
Altro	È necessaria una miscela di controllo interno-Buffer ATE; l'utilizzo del controllo interno è opzionale

Cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo)

Posizione A1 e/o A2	Cartuccia reagenti RC)
Posizione B1	n/a
Supporto per rack per puntali 1-17	Puntali con filtro monouso, 200 o 1500 µl
Supporto per box unitari 1-4	Box unitari contenenti cartucce per la preparazione dei campioni o 8-Rod Covers

n/a = non applicabile.

Cassetto "Waste" (Materiali di scarto)

Supporto per box unitari 1-4

Box unitari vuoti

Supporto per sacchetto dei materiali di scarto

Sacchetto dei materiali di scarto

Supporto per contenitore dei residui liquidi

Contenitore dei residui liquidi vuoto

Cassetto "Eluate" (Eluito)

Rack per eluizione (si consiglia di utilizzare l'apertura 1, posizione di raffreddamento)

Per ulteriori informazioni, consultare l'elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com.

Plastica da laboratorio occorrente

Plastica da laboratorio	Un lotto 24 campioni*	Due lotti 48 campioni*	Tre lotti 72 campioni*	Quattro lotti 96 campioni*
Disposable filter-tips, 200 µl†	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl†	98	188	278	368
Sample prep cartridges‡	21	42	63	84
8-Rod Covers§	3	6	9	12

* L'impiego di meno di 24 campioni per lotto riduce il numero di puntali con filtro monouso necessari per ogni processazione.

† Ci sono 32 puntali con filtro su ogni rack per puntali.

‡ La quantità di puntali con filtro necessari include i puntali con filtro per 1 scansione di inventario per ogni cartuccia reagenti.

§ Ci sono 28 cartucce per la preparazione dei campioni in ogni box unitario.

¶ Ci sono dodici 8-Rod Covers in ogni box unitario.

Nota: il numero di puntali con filtro può variare da quello visualizzato sul touch screen a seconda delle impostazioni. Si consiglia di caricare la massima quantità possibile di puntali.

Volume di eluizione selezionato

Volume di eluizione selezionato (µl)*	Volume di eluizione iniziale (µl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* Volume di eluizione selezionato sul touch screen. Si tratta del volume accessibile minimo di eluito nella provetta di eluizione finale.

† Il volume iniziale della soluzione di eluizione necessaria per garantire il volume effettivo di eluito è identico al volume selezionato.

Preparazione della miscela di controllo interno–Buffer ATE

L'utilizzo del protocollo VirusBlood200_V5_DSP in combinazione con sistemi di amplificazione che fanno uso di un controllo interno potrebbe richiedere l'inserimento di questo controllo interno nella procedura di purificazione per monitorare l'efficienza della preparazione dei campioni e dell'esame downstream.

La quantità di controllo interno aggiunta dipende dal sistema dell'esame e dal volume di eluizione selezionato nel protocollo VirusBlood200_V5_DSP. Il calcolo e la convalida devono essere effettuati dall'utente. Consultare le istruzioni del produttore dell'esame downstream per stabilire la concentrazione ottimale del controllo interno.

I controlli interni devono essere aggiunti alla miscela controllo interno-Buffer ATE (ATE) in un volume totale di 60 µl. Una miscela di controlli interni può essere utilizzata per analizzare diversi parametri di un singolo eluito. L'utente deve convalidare la compatibilità dei diversi controlli interni. Si consiglia di preparare miscele fresche per ogni processo subito prima dell'uso. Se non si utilizzano controlli interni, è comunque necessario utilizzare il Buffer ATE.

Volume di eluizione selezionato (µl)	Volume di eluizione iniziale (µl)	Volume controllo interno (µl)*	Volume del Buffer ATE (ATE) (µl)	Volume finale per campione (µl)
60	90	9	51	60
85	115	11,5	48,5	60
110	140	14	46	60
165	195	19,5	40,5	60

* Il calcolo della quantità di controllo interno si basa sui volumi di eluizione iniziali. Il volume di vuoto aggiuntivo dipende dal tipo di provetta utilizzata per la miscela IC; per i dettagli, consultare l'elenco dei materiali di laboratorio disponibile all'indirizzo www.qiagen.com.

Nota: i valori indicati in tabella si riferiscono alla preparazione della miscela di controllo interno-Buffer ATE per un esame downstream che richiede 0,1 µl di controllo interno/µl di eluito.

Le provette contenenti miscele di controllo interno-Buffer ATE vengono collocate in un portaprovette. Il portaprovette contenente la/e miscela/e di controllo interno-Buffer ATE deve essere posizionato nello slot A del cassetto "Sample" (Campione).

A seconda del numero di campioni da trattare, si consiglia di utilizzare provette da 2 ml (Sarstedt, nn. cat. 72.693 e 72.694) o provette da 14 ml 17 x 100 mm in polistirene a fondo tondo (BD, n. cat. 352051) per diluire il controllo interno, come descritto nella tabella seguente. È possibile dividere il volume fra 2 o più provette.

Calcolo del volume della miscela di controllo interno

Tipo di provetta*	Nome sul touch screen QIASymphony	Calcolo del volume della miscela di controllo interno per provetta
2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, n. cat. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt, n. cat. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD, n. cat. 352051)	BD#352051 FalconPP 17 x 100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\ddagger$

* Per l'insero o gli inserti necessari, consultare l'elenco dei materiali da laboratorio disponibile nella scheda risorse della pagina del prodotto su www.qiagen.com.

[†] Utilizzare questa equazione per calcolare il volume necessario della miscela di controllo interno (n = numero di campioni; $60 \mu\text{l}$ = volume di miscela di controllo interno-Buffer ATE; $360 \mu\text{l}$ = volume vuoto necessario per provetta). Per esempio per 12 campioni ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Non riempire la provetta con più di 1,92 ml (ossia un massimo di 26 campioni per provetta). Per processare più di 26 campioni, usare provette supplementari, assicurandosi di aggiungere il volume vuoto per ogni provetta.

[‡] Utilizzare questa equazione per calcolare il volume necessario della miscela di controllo interno-Buffer ATE (n = numero di campioni; $60 \mu\text{l}$ = volume di miscela di controllo interno-Buffer ATE; $600 \mu\text{l}$ = volume vuoto necessario per provetta). Per esempio per 96 campioni ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

Preparazione dei campioni

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) disponibili presso il fornitore.

Per raccomandazioni generali relative a prelievo, trasporto e conservazione, fare riferimento alla linea guida approvata dal CLSI MM13-A "Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods". Inoltre, durante la preparazione, la conservazione, il trasporto e la manipolazione generale dei campioni devono essere seguite le istruzioni del produttore del dispositivo di raccolta dei campioni selezionato.

Sangue umano intero

Per l'isolamento del DNA virale si consiglia di utilizzare campioni di sangue intero trattati con EDTA o citrato. Per una conservazione a breve termine, fino a 7 giorni, si consiglia di conservare a 2–8°C. Per una conservazione più lunga, si consiglia di congelare le aliquote a -20°C per un massimo di 3 mesi o a -80°C per un massimo di 1 anno.

Nota: la stabilità del campione dipende in larga misura da vari fattori ed è legata alla specifica applicazione a valle. È stata stabilita per il QIASymphony DSP DNA Mini Kit in relazione ad applicazioni a valle esemplari. È responsabilità dell'utente consultare le istruzioni per l'uso della specifica applicazione a valle utilizzata nel proprio laboratorio e/o convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire le condizioni di conservazione adeguate.

Se si utilizzano campioni di sangue fresco in provette primarie, miscelare accuratamente i campioni di sangue (ad es. capovolgendo più volte le provette) prima di caricarli sul QIASymphony SP. I campioni congelati devono essere scongelati rapidamente in un bagno d'acqua a 37°C con una leggera agitazione per garantire un'accurata miscelazione e poi portati a temperatura ambiente (15–25°C) prima di iniziare la procedura. Per garantire un corretto trasferimento dei campioni, evitare la formazione di schiuma nelle provette dei campioni. Cercare di evitare la formazione di coaguli di sangue nei campioni e, se necessario, trasferire il campione senza coaguli in una provetta pulita.

Conservazione degli eluiti

Si consiglia di rimuovere la piastra per eluizione dal cassetto "Eluate" (Eluito) subito dopo la conclusione del processo. Le piastre per eluizione possono essere lasciate nel QIASymphony SP al termine del processo il giorno seguente (massimo 12 ore, inclusa la durata del processo stesso; condizioni ambientali raccomandate: 18–26°C e umidità relativa del 20–75%). In base alla temperatura e al grado di umidità, l'eluito potrebbe essere esposto a formazione di condensa o evaporazione.

Per la conservazione a breve termine degli eluiti fino a 7 giorni, si consiglia di conservare l'acido nucleico purificato a 2–8°C. Per la conservazione a lungo termine, si consiglia la conservazione a -20°C o -80°C.

Nota: La stabilità degli eluiti dipende in larga misura da vari fattori ed è correlata alla specifica applicazione a valle. È stata stabilita per il QIASymphony DSP DNA Mini Kit in relazione ad applicazioni a valle esemplari. È responsabilità dell'utente consultare le istruzioni per l'uso della specifica applicazione a valle utilizzata nel proprio laboratorio e/o convalidare l'intero flusso di lavoro per stabilire le condizioni di conservazione adeguate.

Sostanze interferenti

I campioni di sangue con alte concentrazioni di trigliceridi (>30 g/l) possono ridurre la resa di gDNA.

Nota: i test sono stati eseguiti utilizzando applicazioni a valle esemplari per valutare la qualità degli acidi nucleici estratti. Tuttavia, applicazioni a valle diverse possono avere requisiti diversi per quanto riguarda la purezza (cioè l'assenza di potenziali sostanze interferenti), quindi l'identificazione e il test delle sostanze rilevanti devono essere stabiliti come parte dello sviluppo dell'applicazione a valle per qualsiasi flusso di lavoro che coinvolga il QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Nota: Secondo la norma ISO 20186-2:2019(E) l'eparina presente nelle provette di raccolta del sangue può compromettere la purezza degli acidi nucleici isolati e un eventuale carryover negli eluiti potrebbe determinare inibizioni in alcune applicazioni a valle. Pertanto, si consiglia di utilizzare campioni di sangue trattati con EDTA o citrato come anticoagulante per la preparazione del plasma.

Simboli

Nel presente documento compaiono i seguenti simboli. Per un elenco completo dei simboli utilizzati nelle istruzioni per l'uso o sulla confezione e sull'etichettatura, consultare il manuale.

Simbolo	Definizione del simbolo
	Questo prodotto soddisfa i requisiti del Regolamento europeo 2017/746 per i dispositivi medico-diagnostici in vitro.
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Numero di catalogo
Rn	R sta per revisione delle istruzioni per l'uso e n è il numero di revisione
	Produttore

Cronologia delle revisioni

Revisione	Descrizione
R1, giugno 2022	Versione 2, revisione 1 <ul style="list-style-type: none">• Aggiornamento alla versione 2 per la conformità a IVD• Aggiunta del paragrafo Materiali necessari ma non forniti• Aggiunta del paragrafo Sostanze interferenti.• Aggiunta del paragrafo Conservazione degli eluiti• Aggiunta del paragrafo Simboli• Aggiornamento del paragrafo Preparazione dei campioni

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per le clausole di esclusione della responsabilità specifiche dei prodotti, consultare il manuale del kit o il manuale utente QIAGEN®. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti ai servizi tecnici QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). I marchi registrati, di fabbrica e così via utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, devono essere considerati come protetti dalla legge.
06/2022 HB-3029-S06-001© 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.