

Istruzioni per l'uso (Scheda del protocollo) del QIAsymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit

Protocollo Complex400_V4_DSP

Versione 2

IVD

Per uso diagnostico in vitro

Per uso con QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit

CE

REF

937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1 La scheda del protocollo è disponibile in via elettronica nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Informazioni generali

Il QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit è studiato per l'uso diagnostico in vitro.

| | |
|---|---|
| Kit | QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit |
| Materiale campione | Campioni delle vie aeree e della zona urogenitale |
| Nome del protocollo | Complex400_V4_DSP |
| Set di controllo dell'esame predefinito | ACS_Complex400_V4_DSP_default_IC |
| Parte modificabile | Volume di eluito: 60, 85 e 110 µl |
| Versione del software necessaria | Versione 4.0 o superiore |
| Configurazione del software necessaria per uso diagnostico in vitro (IVD) | Profilo di default 1 |

Cassetto "Sample" (Campione)

| | |
|----------------------------------|---|
| Tipo di campione | Urina, tamponi della zona urogenitale (in terreni di trasporto, ad es. PreservCyt®, UTM, eNAT™) e tamponi delle vie aeree (tamponi asciutti o in terreni di trasporto, ad es. UTM, eNAT) |
| Volume del campione | Dipende dal tipo di provetta per campioni utilizzata; per maggiori informazioni, consultare la lista del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com |
| Volume di campione processato | Per maggiori informazioni, consultare la lista del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com |
| Provette per campioni primarie | Per maggiori informazioni, consultare la lista del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com |
| Provette per campioni secondarie | Dipende dal tipo di provetta per campioni utilizzata; per maggiori informazioni, consultare la lista del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com |
| Inseriti | Dipende dal tipo di provetta per campioni utilizzata; per maggiori informazioni, consultare la lista del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com |
| Altro | È necessaria una miscela di RNA trasportatore-Buffer AVE; l'utilizzo del controllo interno è opzionale |

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

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

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 |

Cassetto "Eluate" (Eluito)

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

Per maggiori informazioni, consultare la lista del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo 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†‡ | 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 |

* L'impiego di più di un controllo interno per lotto e l'esecuzione di più di una scansione di inventario richiedono ulteriori puntali con filtro monouso. L'impiego di meno di 24 campioni per lotto riduce il numero di puntali con filtro monouso necessari per ogni lavorazione.

† 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 |

* 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–RNA trasportatore (CARRIER)–Buffer AVE (AVE)

| Volume di eluizione selezionato (µl) | Volume soluzione madre con RNA trasportatore (CARRIER) (µl) | Volume controllo interno (µl)* | Volume Buffer AVE (AVE) (µl) | Volume finale per campione (µl) |
|--------------------------------------|--|--------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| 60 | 3 | 9 | 108 | 120 |
| 85 | 3 | 11,5 | 105,5 | 120 |
| 110 | 3 | 14 | 103 | 120 |

* Il calcolo della quantità di controllo interno si basa sui volumi di eluizione iniziali. Il volume aggiuntivo a vuoto dipende dal tipo di provetta per campione utilizzata; per maggiori informazioni, consultare la lista del materiale da laboratorio, disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Nota: i valori indicati in tabella si riferiscono alla preparazione della miscela di controllo interno–RNA trasportatore (CARRIER) per un esame downstream che richiede 0,1 µl di controllo interno/µl di eluito.

Le provette contenenti la miscela di controllo interno-RNA trasportatore (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) vengono collocate in un portaprovette. Il portaprovette contenente la/e miscela/e di controllo interno-RNA trasportatore (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) deve essere collocato nell'apertura A del cassetto campioni.

A seconda del numero di campioni da elaborare, raccomandiamo l'impiego di provette da 2 ml (Sarstedt, n. cat. 72.693 o 72.694) o Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD™, n. cat. 352051) per diluire il controllo interno, come descritto nella tabella sottostante. Il volume può essere suddiviso in 2 o più provette.

Calcolo del volume della miscela di controllo interno

| Tipo di provetta | Nome sul touch screen QIAAsymphony | Calcolo del volume per provetta della miscela di controllo interno-RNA trasportatore (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) |
|---|------------------------------------|---|
| Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, n. 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, n. 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 [§] , n. cat. 352051) | BD#352051 FalconPP 17x100 | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$ |

* Utilizzare questa equazione per calcolare il volume richiesto della miscela di controllo interno (n = numero di campioni; $120 \mu\text{l}$ = volume di miscela controllo interno-RNA trasportatore (CARRIER)-Buffer AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = volume vuoto richiesto per provetta). Per esempio per 12 campioni ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Non caricare la provetta con più di 1,9 ml (ossia un massimo di 12 campioni per provetta). Per processare più di 12 campioni, usare provette supplementari, assicurandosi di aggiungere il volume vuoto per ogni provetta.

† Utilizzare questa equazione per calcolare il volume richiesto della miscela di controllo interno-RNA trasportatore (CARRIER)-Buffer AVE (AVE) (n = numero di campioni; $120 \mu\text{l}$ = volume di miscela di controllo interno-RNA trasportatore (CARRIER)-Buffer AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = volume vuoto richiesto per provetta). Per esempio per 96 campioni ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

§ BD era il precedente fornitore di questa provetta, mentre l'attuale fornitore è Corning Inc.

Per gli inserti necessari, consultare la lista del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Uso di materiale da laboratorio FIX

L'uso del rilevamento del livello del liquido (Liquid-Level Detection, LLD) per il trasferimento dei campioni permette di utilizzare provette primarie e secondarie. Tuttavia questa operazione richiede un certo volume morto nelle rispettive provette. Per ridurre al minimo i volumi morti, le provette secondarie dovrebbero essere utilizzate senza il rilevamento del livello di liquido. È disponibile materiale da laboratorio FIX specifico (ad es. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) che è possibile anche selezionare sul touch screen del QIAAsymphony SP. Questo tipo di provetta/rack impone alcuni limiti all'aspirazione. Il campione viene aspirato ad un'altezza particolare nella provetta, altezza definita dal volume di campione da trasferire. Pertanto è essenziale verificare che venga utilizzato il volume che figura nella lista del materiale da laboratorio. La lista del materiale da laboratorio è disponibile per il download all'indirizzo www.qiagen.com nella scheda delle risorse della pagina prodotti.

Le provette per campioni possono essere utilizzate con o senza il rilevamento del livello del liquido e anche i volumi di campione necessari sono indicati nella lista del materiale da laboratorio disponibile all'indirizzo www.qiagen.com nella scheda delle risorse della pagina prodotti. Non utilizzare volumi superiori o inferiori al volume richiesto, poiché questo potrebbe determinare errori durante la preparazione dei campioni.

Le provette per il rilevamento del livello del liquido e le provette che non sono per rilevamento del livello del liquido possono essere trattate in un solo lotto/processo.

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.

Evitare la formazione di schiuma all'interno o sui campioni. In base al materiale iniziale utilizzato, può essere necessario pretrattare i campioni. I campioni devono essere portati a temperatura ambiente (15–25 °C) prima di avviare la procedura.

Nota: la stabilità del campione dipende in larga misura da vari fattori ed è correlata alla specifica applicazione a valle. Per i kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen, la stabilità è stata determinata con 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 determinare le condizioni per la conservazione appropriate.

Per le raccomandazioni generali di raccolta, trasporto e conservazione, fare riferimento alle linee guida CLSI MM13-A "Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods" (Raccolta, trasporto, preparazione e conservazione dei campioni per metodi molecolari). Inoltre, durante la preparazione, la conservazione, il trasporto e la manipolazione in generale dei campioni, è opportuno seguire le istruzioni del produttore per il dispositivo/kit di raccolta dei campioni selezionato.

Urina

L'urina può essere conservata a 2–8 °C fino a 6 ore. Per intervalli di conservazione più lunghi, consigliamo il congelamento a –20 °C o –80 °C. L'urina può essere processata senza ulteriori pretrattamenti. Trasferire il campione in una provetta Sarstedt da 2 ml (n. cat. 72.693 o 72.694) e posizionare il campione nel portaprovette. In alternativa è possibile utilizzare provette primarie. Il volume iniziale minimo necessario può variare a seconda della provetta primaria utilizzata. I formati compatibili delle provette primarie e secondarie, compreso il volume iniziale minimo necessario per il protocollo, sono indicati nella lista del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com. Il sistema è ottimizzato per campioni di pura urina che non contengono conservanti. Per aumentare la sensibilità per i patogeni batterici è possibile centrifugare i campioni. Dopo aver eliminato il supernatante, è possibile risospendere il pellet in un Buffer ATL (ATL) di almeno 500 µl (n. cat. 939016). Trasferire il campione in una provetta Sarstedt da 2 ml (n. cat. 72.693 o 72.694). Collocare il campione nel portaprovette e sottoporlo a processo utilizzando il protocollo Complex400_V4_DSP e il materiale FIX occorrente.

Isolamento del DNA genomico da batteri Gram-positivi

È possibile migliorare la purificazione del DNA per alcuni batteri Gram-positivi tramite pretrattamento enzimatico prima di trasferire il campione nel QIASymphony SP e di cominciare il protocollo Complex400_V4_DSP.

1. Sedimentare i batteri centrifugando a 5000 x g per 10 minuti.
2. Sospendere il pellet di batteri in 500 µl della soluzione enzimatica adeguata (20 mg/ml di lisozima o 200 µg/ml di lisostafina in 20 mM Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM EDTA; 1,2% Triton X-100).
3. Incubare a 37 °C per almeno 30 minuti.
4. Centrifugare brevemente la provetta per eliminare le gocce dall'interno del tappo.
5. Trasferire il campione in una provetta Sarstedt da 2 ml (n. cat. 72.693 o 72.694), collocare il campione nel portaprovette e procedere con il protocollo Complex400_V4_DSP usando il materiale FIX occorrente.

Campioni viscosi o mucosi

Alcuni campioni possono essere viscosi e richiedere la liquefazione per consentire la pipettatura. I campioni a bassa viscosità non richiedono ulteriori preparazioni. I campioni a viscosità medio-alta devono essere preparati come segue:

1. Diluire il campione 1:1 con lo 0,3% (p/v) di ditionitrito (DTT).

Nota: la soluzione 0,3% (p/v) DTT può essere realizzata anticipatamente e conservata in aliquote a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Eliminare le aliquote scongelate dopo l'uso.

2. Incubare a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ finché la viscosità del campione non è adatta per la pipettatura.
3. Trasferire almeno 500 μl del campione in una provetta Sarstedt da 2 ml (n. cat. 72.693 o 72.694). Processare il campione usando il protocollo Complex400_V4_DSP.

Tamponi asciutti di liquidi corporei e secrezioni

1. Immergere l'estremità del tampone asciutto in 750 μl di Buffer ATL (ATL) (n. cat. 939016) e incubare a $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ per 15 minuti, miscelando in continuazione. Se la miscelazione non è possibile, agitare su vortex prima e dopo l'incubazione per almeno 10 secondi.
2. Rimuovere il tampone e spremere tutto il liquido premendo il tampone contro la parte interna della provetta.
3. Trasferire almeno 500 μl del campione in una provetta Sarstedt da 2 ml (n. cat. 72.693 o 72.694). Processare il campione con il protocollo Complex400_V4_DSP.

Nota: Questo protocollo è ottimizzato per tamponi di cotone o polietilene. Quando si usano altri tamponi, potrebbe essere necessario adeguare il volume del Buffer ATL (ATL) per garantire la disponibilità di almeno 500 μl di materiale campione.

Tamponi delle vie aeree o della zona urogenitale

I tamponi della zona urogenitale (in terreni di trasporto, ad es. PreservCyt, UTM, eNAT) e i tamponi delle vie aeree (tamponi asciutti o in terreni di trasporto, ad es. UTM, eNAT) possono essere conservati a $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ fino a 6 ore. Per intervalli di conservazione più lunghi, consigliamo il congelamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

È possibile usare terreni di conservazione per tamponi delle vie aeree o della zona urogenitale senza pretrattamento. Se il tampone non è stato rimosso, premerlo contro l'interno della provetta per spremere il liquido. Eventuali eccessi di muco nel campione devono essere rimossi in questo momento, raccogliendoli sul tampone. Ogni residuo di liquido nel muco e nel tampone deve essere poi spremuto premendo il tampone contro l'interno della provetta. Infine occorre rimuovere ed eliminare il tampone e il muco. Se i campioni sono viscosi, eseguire un passaggio di liquefazione (vedere la sezione "Viscous or mucous samples") prima di trasferire il campione nel QIASymphony SP. In mancanza di una quantità sufficiente di materiale iniziale, pipettare il Buffer ATL (ATL) nel terreno di trasporto per ottenere il volume iniziale minimo necessario, quindi agitare su vortex il campione per 15–30 secondi nella provetta (se il terreno di trasporto contiene il tampone, eseguire questo passaggio prima di rimuovere il tampone). Trasferire il campione in una provetta Sarstedt da 2 ml (n. cat. 72.693 o 72.694) e posizionare il campione nel portaprovette. In alternativa è possibile utilizzare provette primarie. Il volume iniziale minimo necessario può variare a seconda della provetta primaria utilizzata. Le provette primarie e secondarie compatibili, compreso il volume iniziale minimo necessario per ogni protocollo, sono disponibili nella lista del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Limitazioni e sostanze interferenti

Non sono stati osservati impatti negativi significativi di sostanze potenzialmente interferenti (per i dettagli, vedere il documento delle caratteristiche delle prestazioni applicabile, disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com).

Nota: i test sono stati eseguiti utilizzando applicazioni a valle esemplari per una valutazione della qualità degli acidi nucleici estratti. Tuttavia, applicazioni a valle diverse possono avere requisiti diversi in termini di purezza (ossia assenza di sostanze potenzialmente interferenti), pertanto, anche l'identificazione e il test di sostanze rilevanti devono essere determinate come parte dello sviluppo dell'applicazione a valle per ogni flusso di lavoro che comprenda i kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen.

Conservazione degli eluiti

Nota: la stabilità degli eluiti dipende in larga misura da vari fattori ed è correlata alla specifica applicazione a valle. Per i kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen, la stabilità è stata determinata con 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 determinare le condizioni per la conservazione appropriate.

Per una conservazione a breve termine che non supera le 24 ore, si consiglia di mantenere gli acidi nucleici purificati a una temperatura di 2–8 °C. Per una conservazione a lungo termine che supera le 24 ore, si consiglia una temperatura di –20°C.

Simboli

In questo documento sono presenti i seguenti simboli. Per un elenco completo dei simboli utilizzati nelle istruzioni per l'uso o sulla confezione e sull'etichettatura, fare riferimento al 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 conformità a IVDR• Estensione della sezione Preparation of sample material• Aggiunta della sezione Limitations and interfering substances• Aggiunta della sezione Storage of eluates• Aggiunta della sezione Symbols |

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 all'indirizzo www.qiagen.com oppure possono essere richiesti ai servizi tecnici QIAGEN o al proprio distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QAsymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); PreservCyf® (Hologic, Inc.); 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-3028-S03-001© 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.