

# Istruzioni per l'uso (scheda del protocollo) QIAsymphony<sup>®</sup> DSP DNA Midi Kit

Protocollo DNA\_Buffy\_Coat\_400\_V6 DSP

Versione 2

**IVD**

Per uso diagnostico in vitro

Da utilizzare con QIAsymphony DSP DNA Midi Kit (96)

**CE**

**REF**

937255



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](http://www.qiagen.com).

## Informazioni generali

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

Questo protocollo è previsto per la purificazione del DNA genomico totale e mitocondriale da sangue umano intero fresco o congelato utilizzando il QIASymphony SP e il QIASymphony DSP DNA Midi Kit.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP DNA Midi Kit (n. cat. 937255)
Materialie campione	Buffy Coat (trattato con anticoagulante EDTA, citrato o eparina)
Nome del protocollo	DNA_BC_400_V6_DSP
Set di controllo dell'esame predefinito	ACS_BC_400_V6_DSP
Parte modificabile	Volume di eluizione: 200 e 400 µl
Versione software richiesta	Versione 4.0 o superiore
Configurazione software richiesta per uso IVD	Profilo di default 1

## Cassetto "Sample" (Campione)

<b>Tipo di campione</b>	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 <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
Provette per campioni primarie	n/a
Provette per campioni secondarie	Per ulteriori informazioni, consultare l'elenco dei materiali da laboratorio disponibile nella scheda risorse della pagina del prodotto su <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
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 <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .

n/a = non applicabile.

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

<b>Posizione A1 e/o A2</b>	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)

<b>Supporto per box unitari 1-4</b>	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](http://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†	4	4	4	8
Disposable filter-tips, 1500 µl†	110	212	314	424
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
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

Il volume di eluizione viene selezionato sul touch screen. In base al tipo di campione e al contenuto di DNA, il volume di eluito finale può variare di ben 15 µl in meno rispetto al volume selezionato. Poiché il volume dell’eluito può variare, si consiglia di controllarne il volume effettivo quando si utilizza un sistema di impostazione automatica dell’esame che non verifica il volume dell’eluito prima del trasferimento. L’eluizione in volumi inferiori aumenta la concentrazione finale di DNA ma riduce leggermente la resa. Si consiglia di utilizzare un volume di eluizione adeguato alla prevista applicazione a valle.

## 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.

## Buffy Coat

Il buffy coat è una frazione di sangue intero arricchita di leucociti. L’efficacia dell’arricchimento di leucociti dipende dalla procedura utilizzata per preparare il buffy coat e dalla precisione con cui viene estratto il buffy coat. Preparare il buffy coat centrifugando i campioni di sangue intero contenenti un anticoagulante standard (EDTA, citrato o eparina) a 900–1100 x g per 10 minuti a temperatura ambiente

(15–25 °C). Dopo la centrifugazione, si possono distinguere 3 diverse frazioni: lo strato trasparente superiore è il plasma; lo strato intermedio è il buffy coat e contiene i leucociti concentrati; lo strato inferiore contiene gli eritrociti concentrati. Da 10 ml di sangue intero centrifugato si deve raccogliere circa 1 ml di frazione contenente leucociti, che in media dà un arricchimento di 5–6 volte. Ad esempio, 10 ml di sangue intero con una conta leucocitaria di  $6 \times 10^6$  cellule/ml permettono di ottenere 1 ml di buffy coat. Ipotizzando un arricchimento di leucociti di 5 volte, si ottengono  $3 \times 10^7$  cellule/ml. Pertanto, in un protocollo che utilizza 400 µl di buffy coat si useranno  $1,2 \times 10^7$  cellule.

Per evitare di sovraccaricare la procedura di purificazione del DNA, non preparare campioni di buffy coat con arricchimento > 10 volte. Se i campioni di buffy coat presentano un arricchimento > 10 volte, diluire i campioni con PBS fino ad ottenere un arricchimento pari o inferiore a 10 volte oppure utilizzare una minore quantità di materiale di partenza nella procedura di purificazione del DNA.

I campioni di buffy coat possono essere utilizzati immediatamente oppure conservati a -20°C o -80°C per la purificazione del DNA in un momento successivo. 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.

Nota: La stabilità del campione dipende in larga misura da vari fattori ed è legata alla specifica applicazione a valle. 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.

## 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, gli eluiti possono essere conservati a temperatura ambiente per un massimo di 2 settimane. Per la conservazione a lungo termine, si consiglia la conservazione a 2–8°C, -20°C o -80°C. Gli eluiti congelati non devono essere scongelati più di tre volte.

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 Midi Kit in combinazione 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 stabilire le condizioni di conservazione adeguate.

## Note importanti prima di iniziare

- Le particelle magnetiche QIASymphony possono copurificare l'RNA, se presente nel campione. Per ridurre al minimo il contenuto di RNA nel campione, aggiungere RNase A al campione prima di iniziare la procedura. La concentrazione finale di RNase A deve essere di 2 mg/ml.

## Limitazioni e 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 Midi Kit.

Nota: tenere presente che durante lo sviluppo del QIASymphony DSP DNA Midi Kit non sono state osservate indicazioni che l'eparina abbia un impatto negativo sulle prestazioni. Tuttavia, la norma ISO 20186-2:2019(E) afferma che 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, è responsabilità dell'utente convalidare se l'eparina ha un'influenza negativa sul proprio flusso di lavoro.

## 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"><li>• Aggiornamento alla versione 2 per la conformità a IVD</li><li>• Aggiunta del paragrafo Limitazioni e sostanze interferenti</li><li>• Aggiunta del paragrafo Conservazione degli eluiti</li><li>• Aggiunta del paragrafo Simboli</li><li>• Aggiornamento del paragrafo Preparazione dei campioni</li></ul>

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](http://www.qiagen.com) oppure possono essere richiesti ai servizi tecnici QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group). 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-S05-001© 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.