

Dicembre 2017

Scheda del protocollo QIASymphony[®] SP

Protocollo SP2000_V2_DSP

Questo documento è la scheda del protocollo *QIASymphony SP SP2000_V2_DSP*, revisione 2, per il QIASymphony DSP AXpH DNA Kit, versione 1.

Informazioni generali

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

Questo protocollo è stato sviluppato per l'uso con campioni post-gradiente SurePath® utilizzando lo strumento symphony SP e il DNA QIASymphony DSP AXpH Kit.

Kit	QIASymphony DSP AXpH DNA Kit (n° cat. 937156)
Campioni	Campioni cervicali raccolti nel liquido conservante SurePath
Nome del protocollo	SP2000_V2_DSP
Set di controllo del test predefinito	ACS_SP2000_V2_DSP
Volume del campione*	Volume di campione necessario 2,5 ml Volume di campione lavorato 2 ml
Volume di eluito	Circa 60 µl
Versione del software richiesta	Versione 4.0 o superiore

* Lo strumento QIASymphony SP aspira 2 ml di campione dal fondo della provetta. È richiesto un volume d'ingresso del campione di almeno 2,5 ml per l'estrazione del DNA affinché il campione venga marcato come "valid" (valido). È possibile utilizzare anche un volume d'ingresso del campione di meno di 2,5 ml, ma il campione verrà marcato come "unclear" (non chiaro). Se il volume d'ingresso del campione è inferiore a 1,5 ml, il campione non verrà lavorato e verrà marcato come "invalid" (non valido).

Cassetto "Sample" (Campione)

Tipo di campione	Campioni cervicali raccolti nel liquido conservante SurePath
Volume del campione	Volume di campione necessario 2,5 ml Volume di campione lavorato 2 ml
Provetta per campioni	Provetta da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, n° cat. 352051 www.bd.com) Per maggiori informazioni, consultare l'elenco del materiale da laboratorio nella scheda "Resources" (Risorse) nel sito www.qiagen.com/goto/dspaxph .
Provetta per proteinasi K	Provetta da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, n° cat. 352051 www.bd.com) Per maggiori informazioni, consultare l'elenco del materiale da laboratorio nella scheda "Resources" (Risorse) nel sito www.qiagen.com/goto/dspaxph . Per i volumi di proteinasi K necessari, consultare la sezione "Preparazione della proteinasi K", pag. 4.

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

Posizione A1 e/o A2	Cartuccia reagenti (Reagent cartridge, RC)
Posizione B1	Contenitore del liquido TopElute (TOPE)
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 i coperchi per 8 barre

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
Supporto per scivolo dei puntali	Scivolo dei puntali
Stazione di sosta dei puntali	Stazione di sosta dei puntali vuota

Cassetto "Eluate" (Eluito)

Rack per eluizione (si consiglia di utilizzare l'apertura 1, posizione di raffreddamento)	Per maggiori informazioni, consultare l'elenco del materiale da laboratorio nella scheda "Resources" (Risorse) nel sito www.qiagen.com/goto/dspaxph.
--	--

Plastica da laboratorio occorrente

	Un lotto, 24 campioni*	Due lotti, 48 campioni*	Tre lotti, 72 campioni*	Quattro lotti, 96 campioni*
Puntali con filtro monouso, 1500 µl ^{†‡}	80	160	240	320
Cartucce per la preparazione dei campioni [§]	9	18	27	36
Coperchi per 8 barre [¶]	3	6	9	12

* L'esecuzione di più scansioni di inventario richiede puntali con filtro monouso supplementari. 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 coperchi per 8 barre in ogni box unitario.

Nota: Le quantità indicate per i puntali con filtro possono variare da quelle visualizzate sul touch screen a seconda delle impostazioni. Si consiglia di caricare la massima quantità possibile di puntali.

Preparazione della proteinasi K

Per l'uso con protocolli che utilizzano proteinasi K: QIAGEN® Proteinase K (10 ml; n° cat. 19134)

N° di lotti	N° di campioni	Quantità necessaria di proteinasi K (ml)
1	24	2,9
2	48	5,2
3	72	7,5
4	96	9,8

Nota: QIAGEN Proteinase K può essere conservata a temperatura ambiente (15–25 °C) fino alla data di scadenza. Non utilizzare proteinasi K scaduta.

La quantità necessaria di proteinasi K deve essere trasferita in una provetta da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, n° cat. 352051) e collocata nella prima posizione di un portaprovette. Il portaprovette contenente la proteinasi K deve essere collocato nell'apertura A del cassetto "Sample" (Campione).

Preparazione dei campioni

Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le schede di sicurezza sul prodotto (Material Safety Data Sheets, MSDS), disponibili presso il fornitore.

Campioni cervicali nel liquido conservante SurePath

Questo protocollo è stato sviluppato per l'uso con campioni di precipitato cellulare post-gradiente SurePath.

Nota: I campioni cervicali post-gradiente nel liquido conservante SurePath possono essere conservati a 5–25 °C per un massimo di 8 settimane. I campioni devono essere portati a temperatura ambiente (15–25 °C) e trasferiti nelle provette per campioni poco prima di avviare la lavorazione.

Un campione di precipitato cellulare post-gradiente SurePath da 800 µl, prodotto secondo le istruzioni del produttore, viene riempito fino a 2,8 ml con il terreno SurePath. Questo campione di precipitato cellulare post-gradiente SurePath da 2,8 ml viene ulteriormente diluito con 5,2 ml di acqua deionizzata fino ad un volume totale di 8 ml. Miscelare accuratamente il campione post-gradiente pretrattato SurePath, ad esempio agitando su vortex o capovolgendo la provetta, prima di trasferire 2,5 ml di questo campione in una provetta da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, n° cat. 352051). Collocare il campione in un portaprovette sul QIASymphony SP.

Nota: Per garantire un corretto trasferimento del campione nella cartuccia per la preparazione dei campioni, evitare la formazione di schiuma nel campione collocato sul QIASymphony SP.

Nota: Caricare i controlli del test esterni nella prima posizione del primo portaprovette.

La diluizione del campione di precipitato cellulare post-gradiente SurePath da 2,8 ml fino a 8 ml mette a disposizione una quantità di materiale campione sufficiente per lavorare complessivamente 3 replicati di un campione di precipitato cellulare post-gradiente SurePath sul QIASymphony SP.

Lo strumento QIASymphony SP aspira 2 ml di campione dal fondo della provetta. È richiesto un volume d'ingresso del campione di almeno 2,5 ml per l'estrazione del DNA affinché il campione venga marcato come "valid" (valido). È possibile utilizzare anche un volume d'ingresso del campione di meno di 2,5 ml, ma il campione verrà marcato come "unclear" (non chiaro). Se il volume d'ingresso del campione è inferiore a 1,5 ml, il campione non verrà lavorato e verrà marcato come "invalid" (non valido).

Flusso di lavoro de l protocollo SP2000_V2_DSP

0,8 ml del campione post -gradiente nel liquido conservante SurePath



Aggiungere 2,0 ml del terreno di coltura SurePath per ottenere 2,8 ml di campione di precipitato cellulare post-gradiente SurePath



Aggiungere 5,2 ml di acqua deionizzata per ottenere 8,0 ml di campione di precipitato cellulare post-gradiente SurePath lavorabile



Caricare 2,5 ml di campione di precipitato cellulare post-gradiente SurePath lavorabile nel QIASymphony SP

(rimangono 5,5 ml di campione di precipitato cellulare post-gradiente SurePath lavorabile per ulteriori test)

Nota: 2,8 ml di campione di precipitato cellulare post-gradiente SurePath diluiti in 5,2 ml di acqua deionizzata sono stabili a 2–8 °C per un massimo di 4 settimane.

Consigliamo di utilizzare 2,5 ml del volume d'ingresso del campione, utilizzato anche per eseguire gli studi sulle prestazioni del sistema QIASymphony DSP AXpH DNA. Lo strumento QIASymphony SP aspira 2 ml della frazione cellulare arricchita dal fondo delle provette. Ciò è dovuto alla sedimentazione dei campioni cellulari.

Nota: Ispezionare visivamente il volume di campione residuo nella provetta collocata sul QIASymphony SP dopo aver trasferito il campione nella cartuccia per la preparazione dei campioni per accertarsi che sia avvenuto un completo trasferimento del campione.

Durante la preparazione dei campioni di precipitato cellulare post-gradiente SurePath, una fase di sedimentazione centrifuga rimuove parzialmente dal campione i residui non diagnostici e le cellule infiammatorie in eccesso (per maggiori informazioni consultare il foglietto illustrativo del sistema PrepStain®; Becton Dickinson, doc. n° 779-07085-00, rev. F). Per quanto concerne altre sostanze interferenti, quali lavande, gel contraccettivi, spray vaginali, creme antimicotiche, l'utente è tenuto a convalidarne la ripercussione sul test utilizzato a valle.

Conservazione degli eluiti

Al termine di ogni lavorazione, rimuovere la piastra di microtitolazione contenente gli eluiti direttamente dalla posizione di raffreddamento del cassetto "Eluate" (Eluito) sullo strumento QIASymphony SP.

Nota: Consigliamo di conservare gli eluiti nelle piastre di microtitolazione (Greiner, n° cat. 650161) a 2–8 °C per un massimo di 7 giorni.

Cronologia delle revisioni

Cronologia delle revisioni del documento	
R2 12/2017	Aggiornamento del software QIASymphony versione 5.0

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici 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 al servizio di assistenza QIAGEN o al distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Surepath®, PrepStain® (Becton, Dickinson, and Company). I marchi registrati, i marchi di fabbrica, ecc. utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, non devono essere considerati non protetti dalla legge.
12/2017 HB-0300-S06-002 © 2017 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

Ordini www.qiagen.com/shop | Assistenza tecnica support.qiagen.com | Sito web www.qiagen.com