

Istruzioni per l'uso (manuale) del QIASymphony[®] DSP Circulating DNA Kit



Versione 2



Per uso diagnostico in vitro

Per l'uso con il QIASymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania



1127534IT

Sommario

Uso previsto	4
Utente previsto	4
Descrizione e principio	5
Sommario e spiegazioni	7
Materiali in dotazione	8
Contenuto del kit	8
Materiale necessario ma non in dotazione	9
Reagenti aggiuntivi	9
Materiali di consumo	9
Strumentazione	10
Protocollo e materiale da laboratorio	10
Avvertenze e precauzioni	11
Informazioni sulla sicurezza	11
Informazioni di emergenza	12
Precauzioni	12
Smaltimento	13
Conservazione e manipolazione dei reagenti	14
Stabilità durante l'uso	14
Raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni	15
Procedura	16
Purificazione automatizzata sul QIASymphony SP	16
Protocollo: Purificazione del DNA libero circolante	21

Controllo di qualità	26
Limitazioni	26
Caratteristiche delle prestazioni	27
Guida alla risoluzione dei problemi	28
Simboli	30
Informazioni di contatto	32
Appendice: Quantificazione del DNA libero circolante	33
Informazioni per gli ordini	34
Cronologia delle revisioni del documento	36

Uso previsto

Il QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit utilizza la tecnologia a particelle magnetiche per procedure automatizzate di isolamento e purificazione del DNA libero circolante umano da campioni biologici.

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

Utente previsto

Il QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit è rivolto a utenti professionisti, quali tecnici e medici esperti in tecniche di biologia molecolare.

Descrizione e principio

La tecnologia QIASymphony abbina la velocità e l'efficienza della purificazione degli acidi nucleici basata sullo scambio ionico alla pratica manipolazione delle particelle magnetiche (Figura 1 seguente). La procedura di purificazione è stata studiata in modo da garantire una processazione sicura e riproducibile di campioni potenzialmente infetti, e comprende 3 fasi: legame, lavaggio ed eluizione (vedere il diagramma di flusso a pag. 6). L'utente può scegliere fra diversi volumi d'ingresso dei campioni.

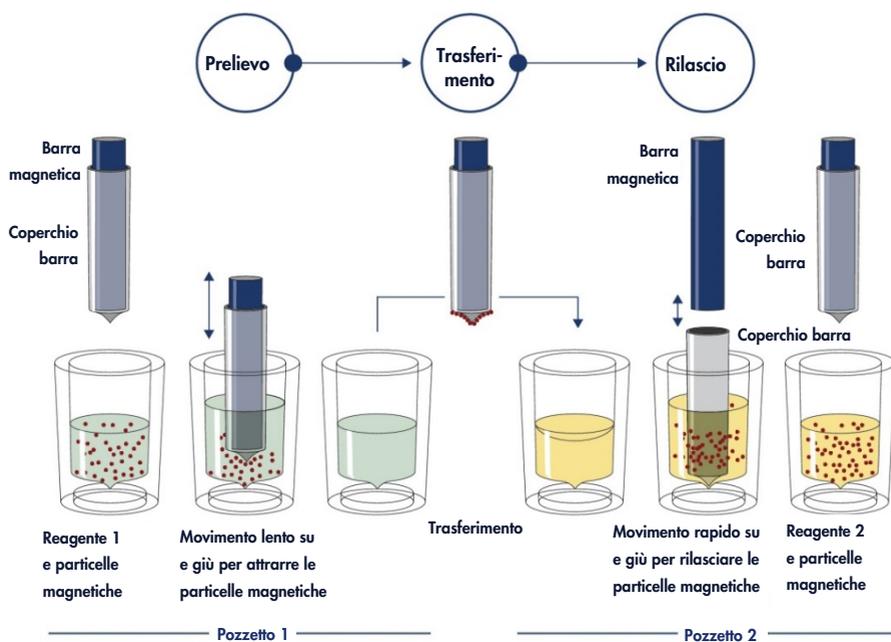
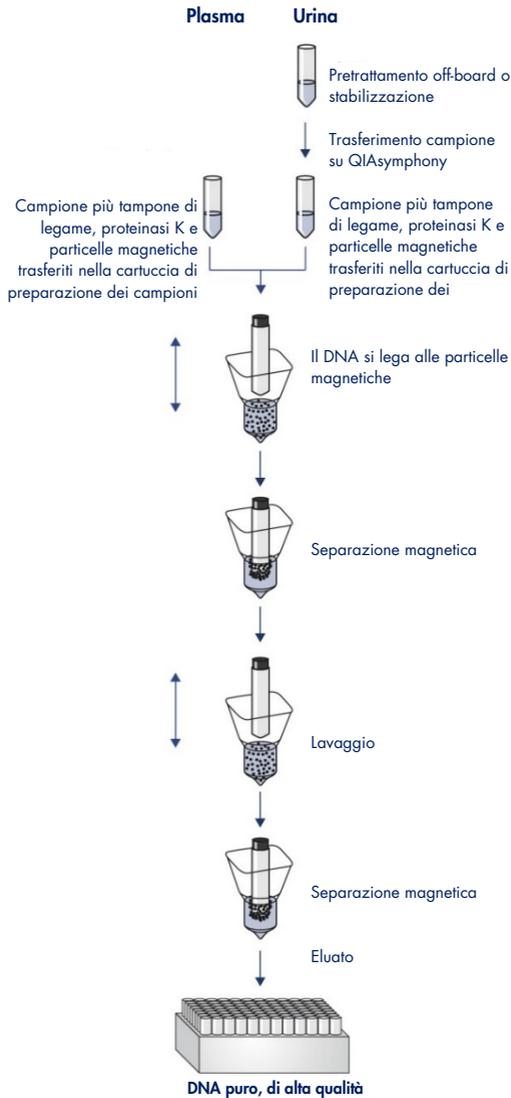


Figura 1. Rappresentazione schematica del principio del sistema QIASymphony SP. Il QIASymphony SP processa un campione contenente particelle magnetiche con la seguente procedura: una barra magnetica protetta da un coperchio entra in un pozzetto contenente il campione e attrae le particelle magnetiche. La barra magnetica con coperchio viene posizionata sopra un altro pozzetto e le particelle magnetiche vengono rilasciate. Queste fasi vengono ripetute più volte durante la processazione dei campioni. Il QIASymphony SP utilizza una testa magnetica contenente una serie di 24 barre magnetiche può processare contemporaneamente fino a 24 campioni.

Procedura QIAasymphony DSP Circulating DNA



Sommario e spiegazioni

Gli acidi nucleici liberi circolanti (cell-free nucleic acids, ccfNA) sono presenti nel plasma o nell'urina di solito sotto forma di frammenti corti, <1000 bp (DNA) e <1000 nt (RNA). Di solito la concentrazione di ccfNA in fluidi biologici, quali plasma o urina, è bassa e varia sensibilmente tra un soggetto e l'altro. Per il ccfNA, la concentrazione può variare da 1 a 100 ng/ml. Il QIASymphony DSP Circulating DNA è un test in vitro pronto all'uso per la purificazione qualitativa di DNA libero circolante (circulating cell-free DNA, ccfDNA) da plasma e urina umani, eseguita sullo strumento QIASymphony SP.

Il QIASymphony DSP Circulating DNA Kit fornisce reagenti per procedure completamente automatizzate e simultanee di purificazione di ccfDNA umano da plasma e urina. Le caratteristiche delle prestazioni non sono state accertate per ogni provetta di prelievo ematico e devono essere convalidate dall'utente. La tecnologia a particelle magnetiche consente di purificare gli acidi nucleici di alta qualità che sono privi di proteine, nucleasi e altre impurità. Il ccfDNA purificato è compatibile con un'ampia gamma di applicazioni a valle. Il QIASymphony SP esegue tutte le fasi della procedura di purificazione. In una singola sessione possono essere processati fino a 96 campioni, in lotti di 24 campioni. I campioni di urina possono richiedere un pretrattamento manuale.

Materiali in dotazione

Contenuto del kit

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit

(192)

Numero di catalogo

937556

Numero di reazioni

192

Abbreviazioni	Identità	Quantità	Principi attivi	Concentrazione [%]*
RC	Reagent cartridge† (Cartuccia reagenti) REAG CART	2	Detergente non ionico Particella magnetica a scambio ionico NaOH Etanolo	da ≥0,5 a <10 [w/w] n/d da ≥0,05 a <0,1 [w/w] da ≥70 a <90 [v/v]
PROTK PROTK	QIAGEN Proteinase K (proteinasi K QIAGEN)	6 x 10 ml	Proteinasi K	da ≥1 a <3 % [w/w]
PL	Piercing lid (Coperchio perforante)	2	n/d	n/d
RSS	Reuse Seal Set (Set sigillabile riutilizzabile)‡	2	n/d	n/d
	Istruzioni per l'uso (manuale)	1	n/d	n/d

* Concentrazione massima in singolo pozzetto.

† Contiene azide di sodio come conservante.

‡ Un Reuse Seal Set contiene 8 Reuse Seal Strips.

Materiale necessario ma non in dotazione

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 di sicurezza sul prodotto (Safety Data Sheet, SDS) disponibili presso il fornitore.

Reagenti aggiuntivi

- Buffer ATL (per il pretrattamento di campioni di urina; cat. n. 939016)
- Soluzione fisiologica con tampone fosfato (phosphate-buffered saline, PBS, potrebbe essere necessaria per rabboccare i volumi dei campioni)

Per ulteriori informazioni necessarie per il pretrattamento e la stabilizzazione di campioni di urina, consultare la scheda di protocollo disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Materiali di consumo

- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (n. cat. 997002)
- 8-Rod Covers (n. cat. 997004)
- Filter-Tips, 200 µl e 1500 µl (n. cat. 990332 e 997024)
- Provette per campioni. Per i formati compatibili delle provette primarie e secondarie, vedere l'elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.
- Provette o piastre per eluizione. Per i formati compatibili delle piastre e delle provette per eluizione, vedere l'elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Strumentazione*

- QIASymphony SP (n. cat. 9001297)
- Agitatore Vortex

Protocollo e materiale da laboratorio

Oltre al manuale, le istruzioni per l'uso, comprendono la scheda di protocollo, l'elenco del materiale da laboratorio e le caratteristiche delle prestazioni, disponibili nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

*Prima dell'uso, assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati secondo le raccomandazioni del produttore.

Avvertenze e precauzioni

Tenere presente che potrebbe essere richiesto di consultare le norme locali per la segnalazione al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità di regolamentazione del Paese dell'utente e/o del paziente di gravi incidenti verificatisi in relazione al dispositivo.

Per uso diagnostico in vitro

Leggere attentamente tutte le istruzioni prima di utilizzare il kit.

Tenere presenti i seguenti rischi restanti:

- quando si utilizzano le provette secondarie, assicurarsi che gli ID campione non siano scambiati durante il trasferimento dell'ID campione dalla provetta primaria alla provetta secondaria.
- Gli ID campione possono essere inseriti anche manualmente (per i dettagli, consultare il *manuale utente QIAsymphony SP*). Se vengono inseriti manualmente dati ID non corretti, potrebbe conseguire una correlazione erranea tra campione e paziente.

Informazioni sulla sicurezza

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le corrispondenti schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS). Le schede SDS sono disponibili in formato PDF online all'indirizzo www.qiagen.com/safety, dove è possibile trovare, visualizzare e stampare la scheda SDS per ciascun kit QIAGEN e i relativi componenti.

- Tutte le sostanze chimiche e i materiali biologici sono potenzialmente pericolosi. I campioni dei pazienti e i campioni analitici sono potenzialmente infettivi e devono essere trattati come materiale a rischio biologico.

- Smaltire campioni e materiali di scarto dell'esame nel rispetto delle procedure di sicurezza locali.

AVVERTENZA Rischio di lesioni personali



Non aggiungere candeggina o soluzioni acide direttamente nelle preparazioni di campioni da eliminare.

I tamponi nella cartuccia reagenti contengono azide di sodio. In caso di fuoriuscita di tamponi del kit, pulire con acqua e detergente da laboratorio idoneo. Se il liquido fuoriuscito contiene agenti potenzialmente infettivi, pulire l'area interessata con acqua e detergente da laboratorio, quindi con una soluzione di ipoclorito di sodio all'1% (v/v).

I campioni sono potenzialmente infettivi. Smaltire campioni e materiali di scarto dell'esame nel rispetto delle procedure di sicurezza locali.

Informazioni di emergenza

CHEMTREC

USA & Canada 1-800-424-9300

Outside USA & Canada +1 703-527-3887

Precauzioni

Le seguenti informazioni sui rischi e misure precauzionali si applicano ai componenti del QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

MBS3

Sodium azide

Contiene: azide di sodio. Avvertenza! Può essere nocivo se ingerito. In caso di malore, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico.

Proteinase K



Contiene: Proteinasi K. Pericolo! Causa lieve irritazione cutanea. Se inalato, può causare sintomi di asma e allergia o difficoltà respiratorie. Evitare di respirare le polveri/i fumi/i gas/il prodotto nebulizzato/i vapori/gli aerosol. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto ufficialmente approvato per lo smaltimento dei rifiuti. Se si manifestano sintomi respiratori: Contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. IN CASO DI INALAZIONE: In caso di difficoltà respiratorie, portare la vittima all'aria aperta e mantenerla tranquilla in posizione confortevole per la respirazione. Indossare una protezione per la respirazione.

QSW9



Contiene: etanolo. Pericolo! Causa grave irritazione agli occhi. Liquido e vapore altamente infiammabile. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto ufficialmente approvato per lo smaltimento dei rifiuti. Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare il medico. Conservare lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici molto calde. - Non fumare. Conservare in luogo ben ventilato. Conservare in luogo fresco. Indossare guanti/abbigliamento protettivo/protezione per gli occhi/la faccia.

Smaltimento

I materiali di scarto contengono campioni e reagenti. Tali materiali di scarto possono contenere materiali tossici o infettivi, pertanto devono essere opportunamente smaltiti. Consultare le normative di sicurezza locali per le corrette procedure di smaltimento.

Per maggiori informazioni, consultare le corrispondenti schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS). Le schede SDS in formato PDF sono disponibili online all'indirizzo www.qiagen.com/safety. Qui è possibile reperire, visualizzare e stampare la scheda SDS per ciascun kit QIAGEN e i relativi componenti.

Conservazione e manipolazione dei reagenti

Il QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kit deve essere conservato in posizione verticale a temperatura ambiente (15–25°C). Le particelle magnetiche nelle cartucce reagenti rimangono attive se conservate a questa temperatura.

Il QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kit contiene soluzione di proteinasi K pronta per l'uso, che può essere conservata a temperatura ambiente.

Nota: L'etichetta applicata sulla scatola del QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kit indica la data di scadenza del kit. Il file dei risultati documenta la data di scadenza solo per la cartuccia reagenti.

Non utilizzare il QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kit se è scaduto.

Stabilità durante l'uso

Eventuali cartucce reagenti utilizzate solo parzialmente possono essere conservate per una durata massima di 4 settimane, in posizione verticale a temperatura ambiente (15–25°C), consentendo un efficiente riutilizzo dei reagenti e una processazione dei campioni più flessibile. Se una cartuccia reagenti è utilizzata solo parzialmente, riposizionare il coperchio sul recipiente contenente le particelle magnetiche e sigillare la cartuccia reagenti con le Reuse Seal Strips (RSS) in dotazione subito dopo il termine del protocollo per evitare l'evaporazione.

Per evitare l'evaporazione dei reagenti, la cartuccia reagenti deve rimanere aperta al massimo per 15 ore (compreso il tempo di processazione) ad una temperatura ambiente massima di 32°C. La conservazione scorretta dei componenti del kit può causare un invecchiamento accelerato dei tamponi.

La processazione di lotti con un numero ridotto di campioni (<24) aumenta sia il tempo in cui la cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC) rimarrà aperta, sia i volumi di tampone necessari, riducendo potenzialmente il numero totale di preparazioni possibili per cartuccia.

Evitare di esporre le cartucce reagenti ai raggi UV (ad esempio, quelli utilizzati per la decontaminazione), in quanto tale esposizione può causare un invecchiamento accelerato delle cartucce reagenti e dei tamponi.

Raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni

Per maggiori informazioni sulla procedura automatizzata (nonché sulle provette per campioni utilizzabili per determinati protocolli), sulla conservazione, sulla manipolazione e sui pretrattamenti specifici dei campioni, consultare la rispettiva scheda di protocollo e l'elenco del materiale da laboratorio disponibili nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Procedura

Purificazione automatizzata sul QIASymphony SP

Il QIASymphony SP consente di eseguire una preparazione automatizzata dei campioni in modo semplice e pratico. I campioni, i reagenti, i materiali di consumo e gli eluiti vengono separati in diversi cassette. Caricare i campioni, i reagenti forniti nelle speciali cartucce e i materiali di consumo preposizionati su rack nel corrispondente cassetto prima di cominciare la processazione. Avviare il protocollo e rimuovere il DNA purificato dal cassetto "Eluate" (Eluito) dopo la processazione. Per le istruzioni di funzionamento consultare i rispettivi manuali d'uso in dotazione con lo strumento.

Nota: La manutenzione opzionale non è obbligatoria per il funzionamento dello strumento, ma è fortemente consigliata per ridurre il rischio di contaminazione.

La gamma dei protocolli disponibili è in costante espansione. È possibile scaricare gratuitamente i nuovi protocolli QIAGEN disponibili all'indirizzo www.qiagen.com nella scheda delle risorse dei singoli kit.

Caricamento delle cartucce reagenti nel cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo)

I reagenti per la purificazione del DNA sono contenuti in un'innovativa cartuccia reagenti (Figura 2, pag. 17). Ciascun recipiente della cartuccia reagenti contiene un particolare reagente, vale a dire particelle magnetiche, tampone di legame, tampone di lavaggio oppure tampone di eluizione. Le cartucce reagenti utilizzate solo parzialmente possono essere richiuse con le Reuse Seal Strips per consentirne un riutilizzo ed evitare la produzione di scarti a causa dei reagenti rimasti al termine della procedura di purificazione.

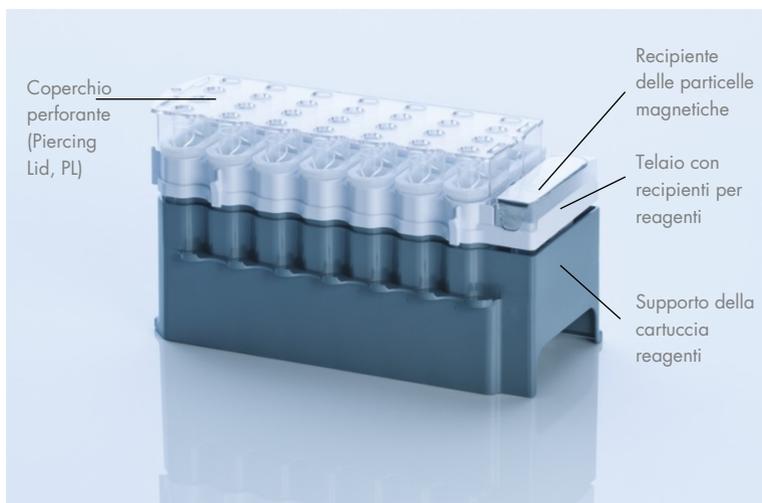


Figura 2. Cartuccia reagenti QIASymphony. La cartuccia reagenti contiene tutti i reagenti necessari per l'esecuzione del protocollo.

Prima di avviare la procedura, accertarsi che le particelle magnetiche siano completamente risospese. Rimuovere il recipiente delle particelle magnetiche dal telaio della cartuccia reagenti, agitarlo vigorosamente su vortex per almeno 3 minuti, quindi riposizionarlo nel telaio della cartuccia reagenti prima dell'uso.

Nota: Le particelle magnetiche possono cambiare colore. Ciò non ha alcun effetto sulle prestazioni.

Collocare la cartuccia reagenti sul relativo supporto. Prima di utilizzare una cartuccia reagenti per la prima volta, posizionare il coperchio perforante (Piercing Lid, PL) sulla cartuccia reagenti (Figura 2, più sopra).

Nota: il coperchio perforante presenta parti acuminatae. Fare attenzione quando lo si posiziona sulla cartuccia reagenti. Accertarsi di posizionare il coperchio perforante sulla cartuccia reagenti nel senso corretto.

Rimuovere il coperchio del recipiente delle particelle magnetiche, quindi caricare la cartuccia reagenti nel cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo).

Le cartucce reagenti utilizzate solo parzialmente possono essere conservate fino al successivo utilizzo (vedere “Conservazione e manipolazione dei reagenti,” pag. 14).

Nota: Aggiungere proteinasi K seguendo le istruzioni riportate nella scheda di protocollo disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all’indirizzo www.qiagen.com.

Nota: Verificare che le cartucce reagenti, i recipienti delle particelle magnetiche e i flaconi di proteinasi K non vengano scambiati tra diversi lotti dei kit.

Caricamento della plasticheeria nel cassetto “Reagents and Consumables” (Reagenti e materiali di consumo)

Caricare le cartucce per la preparazione dei campioni, gli 8-Rod Covers (entrambi preposizionati su rack in box unitari) e i puntali con filtro monouso (puntali da 200 µl forniti in rack blu, puntali da 1500 µl forniti in rack neri) nel cassetto “Reagents and Consumables” (Reagenti e materiali di consumo).

Nota: Accertarsi che i coperchi dei box unitari vengano rimossi prima di caricare i box nel cassetto “Reagents and Consumables” (Reagenti e materiali di consumo).

Nota: i puntali sono provvisti di filtri per impedire la contaminazione crociata.

Gli slot dei rack per puntali sul piano di lavoro del QIA Symphony SP possono essere occupati da qualsiasi tipo di rack per puntali. Il QIA Symphony SP identificherà il tipo di puntale caricato durante la scansione di inventario.

Nota: non rifornire i rack per puntali o i box unitari delle cartucce per la preparazione dei campioni o degli 8-Rod Covers prima di avviare l’esecuzione di un altro protocollo. Il QIA Symphony SP è in grado di utilizzare rack per puntali e box unitari parzialmente utilizzati.

Per i materiali di consumo necessari consultare la rispettiva scheda di protocollo disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all’indirizzo www.qiagen.com. Per informazioni sugli ordini della plasticheeria vedere pag. 34.

Caricamento del cassetto "Waste" (Materiali di scarto)

Le cartucce per la preparazione dei campioni e gli 8-Rod Covers utilizzati per l'esecuzione di un processo vengono riposti in appositi box unitari vuoti nel cassetto "Waste" (Materiali di scarto). Accertarsi che il cassetto "Waste" (Materiali di scarto) contenga sufficienti box unitari vuoti per la plastica prodotta durante l'esecuzione del protocollo.

Nota: Controllare che i coperchi dei contenitori unitari vengano rimossi prima di caricare i box nel cassetto "Waste" (Materiali di scarto). Se si utilizzano i contenitori per 8-Rod Covers per raccogliere sia le cartucce per la preparazione dei campioni usate che gli 8-Rod Covers usati, accertarsi che venga rimosso lo spaziatore nei contenitori.

Sul lato anteriore del cassetto "Waste" (Materiali di scarto) attaccare un sacchetto per raccogliere i puntali con filtro usati.

Nota: il sistema non verifica la presenza di un sacchetto per lo smaltimento dei puntali. Accertarsi che il sacchetto per lo smaltimento dei puntali sia correttamente attaccato prima di avviare l'esecuzione di un protocollo. Per maggiori informazioni, consultare i manuali utente in dotazione con lo strumento. Svuotare il sacchetto dei puntali dopo la processazione di max. 96 campioni per evitare un intasamento dei puntali.

Un contenitore di scarico raccoglie i residui liquidi prodotti durante la procedura di purificazione. Il cassetto "Waste" (Materiali di scarto) si chiude solo se il contenitore dei residui liquidi è inserito. Smaltire i residui liquidi in conformità con le normative di sicurezza e ambientali locali vigenti in materia. Non autoclavare il contenitore dei residui liquidi pieno. Svuotare il contenitore dei residui liquidi al più tardi dopo aver processato al massimo 96 campioni.

Caricamento del cassetto "Eluate" (Eluito)

Caricare il rack per eluizione richiesto nel cassetto "Eluate" (Eluito). Dato che la conservazione a lungo termine degli eluati nel cassetto "Eluate" (Eluito) può comportare evaporazione o formazione di condensa, occorre utilizzare la posizione di raffreddamento. Utilizzare solo "Elution slot 1" (Slot di eluizione 1) con il corrispondente adattatore di raffreddamento.

Scansione di inventario

Prima di avviare la procedura, lo strumento controlla che nei corrispondenti cassette siano stati caricati sufficienti materiali di consumo per i batch in coda.

Preparazione dei campioni

I QIASymphony DSP Circulating DNA Kit sono concepiti per la purificazione automatizzata di DNA umano libero circolante da plasma e urina umani.

Evitare la formazione di schiuma all'interno o sui campioni. In caso contrario si potrebbe determinare il pipettaggio di un volume errato di campione. 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.

Per maggiori informazioni sulla procedura automatizzata (nonché sulle provette per campioni utilizzabili per determinati protocolli) e sui pretrattamenti specifici dei campioni, consultare la rispettiva scheda di protocollo e l'elenco del materiale da laboratorio disponibili nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Conservazione del DNA

Nota: la stabilità degli eluiti dipende in larga misura da vari fattori e si riferisce all'applicazione specifica a valle. È stato determinato per il QS DSP Circulating DNA 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 laboratorio e/o convalidare l'intero flusso di lavoro per determinare le condizioni per la conservazione appropriate.

Dopo la preparazione dei campioni, è possibile conservare gli eluiti a 2–8°C fino a 1 mese e a –20°C o a –80°C fino a 2 mesi. Gli eluiti congelati non devono essere scongelati più di tre volte.

Protocollo: Purificazione del DNA libero circolante

Panoramica del protocollo

Tabella 1. Panoramica del protocollo

Campione	Volume campione (µl)	Volume di eluizione (µl)	Protocollo QIASymphony SP
Plasma, urina	2000	60	circDNA_2000_DSP
Plasma, urina	4000	60	circDNA_4000_DSP

Le informazioni dettagliate sono indicate nelle schede di protocollo e nell'elenco del materiale da laboratorio disponibili nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Si illustra di seguito un protocollo generale per l'impiego dei kit QIASymphony DSP. Per maggiori informazioni sui singoli protocolli, inclusi i volumi e le provette, consultare le schede di protocolli disponibili nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Punti importanti prima di iniziare

- Acquisire esperienza con l'uso del sistema QIASymphony SP. Per le istruzioni di funzionamento consultare i rispettivi manuali d'uso in dotazione con lo strumento.
- La manutenzione opzionale non è obbligatoria per il funzionamento dello strumento, ma è fortemente consigliata per ridurre il rischio di contaminazione.
- Prima di avviare la procedura, leggere "Descrizione e principio", pag. 5.
- Acquisire familiarità con la scheda di protocollo riguardante la procedura che si desidera utilizzare. (Le schede di protocollo sono disponibili nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.)
- Evitare di agitare energicamente la cartuccia reagenti, per prevenire la formazione di schiuma che può causare problemi di rilevamento del livello del liquido.

Prima di avviare un pretrattamento che richiede il Buffer ATL, controllare se si è formato del precipitato nel Buffer ATL. Se necessario, sciogliere il precipitato riscaldando il tampone a 70°C e agitando delicatamente in un bagno d'acqua. Aspirare le bolle d'aria dalla superficie del Buffer ATL.

Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Prima di avviare la procedura, accertarsi che le particelle magnetiche siano completamente risospese. Prima dell'uso, agitare energicamente in vortex per 3 minuti il recipiente contenente le particelle magnetiche.
- Accertarsi che il coperchio perforante venga collocato sulla cartuccia reagenti e che il coperchio del recipiente delle particelle magnetiche venga rimosso oppure, se si utilizza una cartuccia reagenti già parzialmente utilizzata, accertarsi che le strisce sigillanti riutilizzabili siano state rimosse.
- La proteinasi K non è inclusa nella cartuccia reagenti ma deve essere fornita dall'utilizzatore (cassetto campioni, slot A, posizione 1, 2 e/o 3). Verificare che sia disponibile il volume corretto di proteinasi K. (Per maggiori informazioni, consultare la scheda di protocollo disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com).
- Se i campioni sono provvisti di codici a barre, orientare i campioni nel portaprovette in modo che i codici a barre siano rivolti verso il corrispondente lettore sul lato sinistro di QIASymphony SP.
- Per informazioni sulle provette campioni compatibili con un determinato protocollo, vedere il corrispondente elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.
- Per informazioni sui volumi minimi dei campioni per le provette secondarie, vedere il corrispondente elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Procedura

1. Chiudere tutti i cassettei e il coperchio.
2. Accendere il QIAAsymphony SP e attendere finché non appare il messaggio **Sample Preparation** (Preparazione campioni) sullo schermo e finché la procedura di inizializzazione non è terminata.
L'interruttore di alimentazione si trova nell'angolo inferiore sinistro del QIAAsymphony SP.
3. Eseguire l'accesso allo strumento.
4. Caricare il rack per eluizione richiesto nel cassetto "Eluate" (Eluito).
Non caricare una piastra a 96 pozzetti nello "Elution slot 4" (Slot di eluizione 4). Utilizzare "Elution slot 1" (Slot di eluizione 1) con il corrispondente adattatore di raffreddamento.
Se si utilizza una piastra a 96 pozzetti, accertarsi che la piastra sia orientata correttamente, in quanto un posizionamento errato rischia di creare confusione nei campioni nel test a valle.
Se si utilizza il rack Elution Microtubes CL, rimuovere il fondo ruotando il rack fino a fare fuoriuscire il fondo.
5. Accertarsi che il cassetto "Waste" (Materiale di scarto) sia correttamente inserito ed eseguire una scansione di inventario del cassetto "Waste" (Materiale di scarto), incluso lo scivolo dei puntali e il contenitore dei residui liquidi. Se necessario, sostituire il sacchetto di smaltimento dei puntali.
6. Caricare la/e cartuccia/e reagenti e i materiali di consumo richiesti nel cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo).
7. Eseguire una scansione dell'inventario del cassetto "Reagents and Consumables" (Reagenti e materiali di consumo).
8. Collocare i campioni nell'apposito portacampioni e caricarli nel cassetto "Sample" (Campione).

9. Utilizzando il touch screen, inserire le informazioni necessarie per ogni batch di campioni e per la proteinasi K da processare.

Vanno inserite le seguenti informazioni:

- Informazioni del campione (in base ai rack per campioni utilizzati)
- Protocollo da eseguire (set di controllo dell'esame)
- Volume di eluizione e posizione di uscita

Dopo aver inserito le informazioni sul lotto, lo stato passa da "LOADED" (Caricato) a "QUEUED" (In coda). Non appena un batch viene messo in coda, appare il pulsante Run (Processo).

10. Collocare la proteinasi K nell'apposito portacampioni in posizione 1, 2 e/o 3, quindi caricarli nello slot A del cassetto "Sample" (Campione).

11. Definire la proteinasi K premendo il pulsante IC.

12. Premere il pulsante Run (Processo) per avviare la procedura di purificazione.

Tutte le fasi di elaborazione sono completamente automatizzate. Al termine dell'esecuzione del protocollo, lo stato del batch passa da RUNNING (In esecuzione) a COMPLETED (Completato).

13. Dal cassetto "Eluate" (Eluito) estrarre il rack per eluizione contenente gli acidi nucleici purificati.

14. Il DNA è pronto per essere utilizzato o può essere conservato a 2–8°C, –20°C o –80°C.

Si consiglia di rimuovere la piastra di eluizione dal cassetto "Eluate" (Eluito) subito dopo la fine del processo. In base alla temperatura e al grado di umidità, le piastre per eluizione rimaste nel QIASymphony SP dopo il termine del processo possono essere esposte a condensa o evaporazione.

In linea generale le particelle magnetiche non vengono trascinate negli eluiti. In caso di carryover, le particelle magnetiche negli eluiti non influenzano gran parte delle applicazioni a valle.

Se occorre rimuovere le particelle magnetiche prima di eseguire le applicazioni a valle, si consiglia di collocare innanzi tutto le provette o le piastre contenenti gli eluati a contatto con un adeguato magnete e poi di trasferire gli eluiti in una provetta pulita (vedere “Guida alla risoluzione dei problemi”, pag. 28).

Per ogni piastra per eluizione vengono creati file di risultati.

15. Se una cartuccia reagenti è stata utilizzata solo parzialmente, sigillarla con le strisce sigillanti riutilizzabili in dotazione al termine del protocollo per evitare l’evaporazione.

Nota: Per maggiori informazioni sulla conservazione delle cartucce reagenti parzialmente utilizzate, vedere “Conservazione e manipolazione dei reagenti”, pag. 14.

16. Smaltire le provette dei campioni usate, come pure i materiali di scarto in conformità con le disposizioni di sicurezza locali vigenti in materia.

Per le informazioni di sicurezza, consultare “Avvertenze e precauzioni”, pag. 11.

17. Pulire lo strumento QIASymphony SP.

Seguire le istruzioni per la manutenzione riportate nei manuali d’uso in dotazione con lo strumento. Assicurarsi di pulire regolarmente le protezioni dei puntali per ridurre al minimo il rischio di contaminazione crociata.

18. Chiudere i cassetti e spegnere lo strumento QIASymphony SP.

Controllo di qualità

In conformità con il Sistema di Gestione della Qualità certificato ISO di QIAGEN, ogni lotto del QIA Symphony DSP Circulating DNA Kit è stato testato in base a specifiche predefinite per garantire la costante qualità del prodotto.

Limitazioni

L'efficacia del sistema è stata stabilita mediante studi di valutazione delle prestazioni, purificando il ccfDNA ottenuto da plasma e urina umani.

È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualunque procedura utilizzata in laboratorio che non sia coperta dagli studi di valutazione delle prestazioni QIAGEN.

Per minimizzare il rischio di un impatto negativo sui risultati diagnostici, è necessario ricorrere ad adeguati controlli delle applicazioni a valle. Per un'ulteriore convalida, si consiglia di attenersi alle linee guida della Conferenza Internazionale sull'Armonizzazione dei Requisiti Tecnici (ICH) riportate in *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology* (Convalida dei metodi analitici: testo e metodologia).

Eventuali risultati diagnostici generati dal sistema devono essere interpretati in combinazione con gli esiti di altri esami clinici o di laboratorio.

Caratteristiche delle prestazioni

Le caratteristiche delle prestazioni applicabili sono disponibili nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Guida alla risoluzione dei problemi

Questa guida alla risoluzione dei problemi può essere utile per risolvere eventuali situazioni problematiche. Per maggiori informazioni, consultare anche la pagina relativa alle domande frequenti (FAQ) nel nostro servizio di assistenza tecnica: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Gli esperti dei Servizi tecnici QIAGEN sono sempre disponibili per rispondere a qualsiasi domanda riguardante informazioni e/o protocolli presentati in questo manuale o le tecnologie per campioni ed esami (per i dati di contatto visitare il sito www.qiagen.com).

Commenti e suggerimenti

Manipolazione in generale

Messaggio d'errore visualizzato sul touch screen Se durante l'esecuzione di un protocollo viene visualizzato un messaggio d'errore, consultare i manuali forniti con gli strumenti.

Precipitato nel recipiente del reagente della cartuccia aperta del kit QIASymphony DSP

- a) Evaporazione dei tamponi Un'eccessiva evaporazione può causare un aumento della concentrazione di sali nei tamponi. Scartare la cartuccia reagenti. Accertarsi di sigillare i recipienti dei tamponi di una cartuccia reagenti utilizzata solo parzialmente con le strisce sigillanti riutilizzabili se i tamponi non vengono utilizzati per la purificazione.
- b) Conservazione della cartuccia reagenti La conservazione della cartuccia reagenti a una temperatura inferiore ai 15°C può provocare la formazione di precipitati.

Bassa resa di DNA

- a) Particelle magnetiche non risospese completamente Prima di iniziare la procedura, assicurarsi che le particelle magnetiche siano completamente risospese. Agitare su vortex per almeno 3 minuti prima dell'uso.
- b) Ostruzione del puntale per pipetta a causa di materiale insolubile Il materiale insolubile non è stato rimosso dal campione prima di avviare la procedura di purificazione su QIASymphony.
Se necessario, utilizzare le procedure di pretrattamento descritte nella corrispondente scheda di protocollo disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.
- c) I campioni contengono una bassa concentrazione di ccfDNA A causa delle quantità estremamente basse di ccfDNA contenute nei campioni, a seconda del metodo di quantificazione utilizzato è possibile che la concentrazione di DNA non sia rilevata.
Si raccomanda di utilizzare un test qPCR sensibile per verificare la concentrazione di DNA negli eluiti.
- d) Richiusura incompleta della cartuccia reagenti Lo scambio con l'aria circostante potrebbe ridurre la stabilità dei tamponi, con conseguente minore efficacia della procedura di estrazione di ccfDNA con una cartuccia reagenti parzialmente utilizzata. Accertarsi di sigillare accuratamente i recipienti dei tamponi di una cartuccia reagenti utilizzata solo parzialmente con le strisce sigillanti riutilizzabili se i tamponi non vengono utilizzati per la purificazione.

Commenti e suggerimenti

- | | |
|---|---|
| e) Rapida degradazione del ccfDNA in campioni di urina non stabilizzati | A causa della rapida degradazione del ccfDNA in campioni di urina non stabilizzati dopo il prelievo, è possibile che negli eluiti sia rilevata concentrazione di DNA bassa/assente. Si raccomanda di stabilizzare i campioni di urina come descritto nella corrispondente scheda di protocollo.

In alternativa, subito dopo il prelievo e la centrifugazione sottoporre i campioni di urina a pretrattamento ATL e successivamente a estrazione del DNA, come descritto nella corrispondente scheda di protocollo. |
|---|---|

Trasferimento dei campioni assente/incompleto

- | | |
|--|---|
| a) È stato caricato un volume campione non corretto | In caso di caricamento di un volume di campione inferiore a 2,4 ml e inferiore a 4,5 ml, esiste un rischio maggiore che il campione sia contrassegnato in modo non chiaro.

In caso di caricamento di un volume di campione inferiore a 1,4 ml e inferiore a 3,6 ml, esiste un rischio maggiore che il campione sia contrassegnato in modo non valido e che esso non venga trasferito.

Caricare il volume di campione corretto, come descritto nel corrispondente elenco del materiale da laboratorio. Se il campione disponibile è insufficiente, prima di caricarlo aggiungere PBS fino a ottenere il volume necessario. |
| b) Formazione di bolle e/o schiuma all'interno della provetta del campione | La formazione di bolle o schiuma nel campione e/o nella provetta di ingresso campione potrebbe causare l'errato rilevamento del livello del liquido e conseguente trasferimento incompleto del campione. Eliminare le bolle dalla provetta. |

Presenza di bolle sui puntali visibili durante il funzionamento dello strumento

- | | |
|--|--|
| Uso di plastiche FIX in abbinamento a un volume di ingresso campione ridotto | In caso di caricamento di un volume di campione inferiore a 2,1 ml e inferiore a 4,1 ml utilizzando plastiche FIX, un rischio maggiore di trasferimento ridotto di campione non rilevato dallo strumento. Ciò può causare formazione di bolle durante il trasferimento del campione e/o la successiva fase di legame.

Quando si utilizza materiale da laboratorio FIX, caricare il volume di campione corretto, come descritto nel corrispondente elenco della plastiche. Se il campione disponibile è insufficiente, prima di caricarlo aggiungere PBS fino a ottenere il volume necessario. |
|--|--|

Sedimento marrone visibile nell'eluito

- | | |
|---------------------------------|---|
| Carryover di biglie nell'eluito | In caso di carryover di biglie, le particelle magnetiche negli eluiti non influenzano gran parte delle applicazioni a valle.

Se le particelle magnetiche devono essere rimosse, applicare la provetta contenente il DNA a un apposito separatore magnetico finché le particelle magnetiche non si saranno separate.

Qualora il separatore magnetico non fosse disponibile, centrifugare la provetta contenente il DNA per 1 minuto alla massima velocità in una microcentrifuga per sedimentare le eventuali particelle magnetiche residue. |
|---------------------------------|---|

Simboli

I seguenti simboli compaiono nelle istruzioni per l'uso o su confezioni ed etichette:

Simbolo	Definizione del simbolo
 Σ <N>	Contenuto di reagenti sufficiente per <N> reazioni
	Data di scadenza
	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
	Numero di lotto
	Numero di materiale (vale a dire, l'etichetta del componente)
	Componenti
	Contenuto
	Numero
	Codice GTIN
Rn	"R" indica la revisione delle Istruzioni per l'uso (manuale) e "n" indica il numero della revisione

Simbolo	Definizione del simbolo
	Limite di temperatura
	Produttore
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Avvertenza/Cautela
PROTK	Proteinasi K
WELL	Numero di pozzetto (ad es. pozzetto della cartuccia reagenti)
REAG CART	Cartuccia reagenti
Sodium azide	Azide di sodio
E1OH	Etanolo
UDI	UDI (identificatore univoco del dispositivo)

Informazioni di contatto

Per assistenza tecnica e ulteriori informazioni, consultare servizi tecnici QIAGEN all'indirizzo www.qiagen.com/Support, chiamare il numero 00800-22-44-6000, o contattare uno dei reparti di assistenza tecnica QIAGEN o i distributori locali (vedere il retro della copertina o visitare il sito www.qiagen.com).

Appendice: Quantificazione del DNA libero circolante

A causa delle concentrazioni estremamente basse di ccfDNA contenute nei campioni, si sconsiglia di eseguire la misurazione del DNA con uno spettrofotometro. Per la determinazione della concentrazione di DNA libero circolante si raccomanda invece di utilizzare un esame di quantificazione sensibile e accurato basato sulla fluorescenza oppure un esame PCR.

Informazioni per gli ordini

Prodotto	Contenuto	N. cat.
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Include 2 cartucce reagenti, provette per proteinasi K e accessori	937556
QIAsymphony SP	Modulo per la preparazione dei campioni QIAsymphony, garanzia di 1 anno sulle parti e sulla funzionalità di laboratorio	9001297
Prodotti correlati		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	Buffer ATL, 4 x 50 ml, per il pretrattamento di campioni di urina	939016
Proteinase K (10 ml)	1 flacone da 10 ml	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Supporto per cartuccia reagenti da utilizzare con il QIAsymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Adattatore di raffreddamento per provette con tappo a vite da 2 ml. Da utilizzare nel cassetto "Eluate" (Eluito) di QIAsymphony	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Adattatore di raffreddamento per rack EMT. Da utilizzare nel cassetto "Eluate" (Eluito) di QIAsymphony	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIAsymphony, Qsym	Adattatore di raffreddamento per provette Safe-Lock con tappo a pressione Eppendorf® LoBind da 1,5 ml. Da utilizzare nel cassetto "Eluate" (Eluito) di QIAsymphony	9020731

Prodotto	Contenuto	N. cat.
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartucce per la preparazione dei campioni a 8 pozzetti da utilizzare con lo strumento QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	8-Rod Covers da utilizzare con QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Puntali con filtro monouso, su rack; (8 x 128). Da utilizzare con il sistema QIAcube® e gli strumenti QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Puntali con filtro monouso, su rack; (8 x 128). Da utilizzare con gli strumenti QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Tip disposal bags da utilizzare con il QIASymphony SP	9013395
Reuse Seal Set (20)	Set sigillabili riutilizzabili per sigillare le cartucce reagenti QIASymphony utilizzate solo parzialmente	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Provette in polipropilene non sterili (capacità massima di 0,85 ml, capacità di conservazione inferiore a 0,7 ml, capacità di eluizione di 0,4 ml); 2304 in rack da 96; include strisce sigillanti	19588

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti consultare le Istruzioni per l'uso del rispettivo kit QIAGEN. Le Istruzioni per l'uso dei kit QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richieste ai servizi tecnici QIAGEN o al distributore locale.

Cronologia delle revisioni del documento

Revisione	Descrizione
R1, giugno 2022	<p>Versione 2, Revisione 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Aggiornamento alla versione 2 per conformità a IVDR• Aggiornamento dei Materiali in dotazione (aggiunti principi attivi)• Aggiornamento di Avvertenze e precauzioni• Aggiornamento di Conservazione e manipolazione dei reagenti• Aggiunta sezione Smaltimento <p>Aggiornamento della Guida alla risoluzione dei problemi (aggiunto carryover biglie)</p>

Pagina lasciata vuota intenzionalmente

Pagina lasciata vuota intenzionalmente

Pagina lasciata vuota intenzionalmente

Contratto di licenza limitato per il QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit

L'uso di questo prodotto implica l'accordo di qualsiasi acquirente o utente del prodotto ai seguenti termini:

1. Il prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e alle presenti Istruzioni per l'uso e soltanto con i componenti contenuti nel pannello. QIAGEN non concede nessuna licenza, nell'ambito della sua proprietà intellettuale, per l'utilizzo o l'integrazione dei componenti di questo pannello con qualsiasi componente non incluso in questo pannello, fatta eccezione per i protocolli forniti con il prodotto, le presenti Istruzioni per l'uso e i protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com. Alcuni di questi protocolli aggiuntivi sono stati messi a punto da utenti QIAGEN a beneficio degli utenti QIAGEN. Si tratta di protocolli che non sono stati collaudati o ottimizzati da QIAGEN. QIAGEN non offre alcuna garanzia in merito a essi né alla violazione da parte di essi di eventuali diritti di terzi.
2. Al di fuori delle licenze espressamente dichiarate, QIAGEN non garantisce che questo pannello e/o il suo utilizzo non violino i diritti di terzi.
3. Questo pannello e i relativi componenti sono concessi in licenza per un unico uso e non possono essere riutilizzati, rinnovati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del pannello accettano di non prendere o permettere a chiunque altro di prendere misure che potrebbero portare o facilitare qualsiasi atto vietato sopra. QIAGEN farà valere i divieti di questo Contratto di licenza limitata presso qualsiasi foro e otterrà il risarcimento di tutte le spese sostenute a scopo di indagine e consulenza legale, ivi comprese le parcelle degli avvocati, con riferimento a qualsiasi causa legale intentata per fare rispettare questo Contratto di licenza limitata o qualsiasi altro diritto di proprietà intellettuale correlato a questo pannello e/o ai relativi componenti.

Per i termini di licenza aggiornati, visitare il sito www.qiagen.com.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony®, QIAcube® (Gruppo QIAGEN); Eppendorf® (Eppendorf AG). 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.

Giugno-2022 HB-3034-001 1127534IT © 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

