

Dicembre 2017

Scheda del protocollo QIASymphony[®] SP

Protocollo Cellfree200_V7_DSP

Questo documento è la *scheda del protocollo QIASymphony SP Cellfree200_V7_DSP*, revisione 2, per il QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit, versione 1.

Informazioni generali

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

Kit	QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Materiale campione*	Plasma, siero e CSF
Nome del protocollo	Cellfree200_V7_DSP
Set di controllo del test predefinito	ACS_Cellfree200_V7_DSP_default_IC
Parte modificabile	Volume di eluito: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Versione del software necessaria	Versione 4.0 o superiore

* Per ulteriori informazioni, vedere "Preparazione dei campioni" e "Limitazioni" a pag. 5.

Cassetto "Sample" (Campione)

Tipo di campione	Plasma, siero e CSF
Volume del campione	Dipende dal tipo di provetta per campioni utilizzata; per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Provette per campioni primarie	Per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Provette per campioni secondarie	Per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Inseriti	Dipende dal tipo di provetta per campioni utilizzata; per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Altro	È necessaria una miscela di carrier RNA-tampone 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	non pertinente
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 i coperchi per 8 barre

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

Cassetto "Eluate" (Eluito)

Rack per eluizione (si consiglia di utilizzare l'apertura 1, posizione di raffreddamento)	Per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
-------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Plastica da laboratorio occorrente

	Un lotto, 24 campioni*	Due lotti, 48 campioni*	Tre lotti, 72 campioni*	Quattro lotti, 96 campioni*
Puntali con filtro monouso, 200 µl†‡	30	54	78	102
Puntali con filtro monouso, 1500 µl†‡	101	182	271	354
Cartucce per la preparazione dei campioni§	21	42	63	84
Coperchi per 8 barre¶	3	6	9	2

* 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 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 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, ad esempio, il numero di controlli interni utilizzati per ogni lotto.

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-carrier RNA (CARRIER)-tampone AVE (AVE)

Volume di eluizione selezionato (µl)	Volume soluzione madre con carrier RNA (CARRIER) (µl)	Volume controllo interno (µl)*	Volume tampone AVE (AVE) (µl)	Volume finale per campione (µl)
60	2,5	9	108,5	120
85	2,5	11,5	106	120
110	2,5	14	103,5	120

* Il calcolo della quantità di controllo interno si basa sui volumi di eluizione iniziali. L'ulteriore volume vuoto dipende dal tipo di provetta per campioni utilizzata; per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Nota: i valori indicati in tabella si riferiscono alla preparazione della miscela di controllo interno-carrier RNA (CARRIER) per un test a valle che richiede 0,1 µl di controllo interno/µl di eluito.

Le provette contenenti la miscela di controllo interno-carrier RNA (CARRIER)-tampone AVE (AVE) vengono collocate in un portaprovette. Il portaprovette contenente la/e miscela/e di controllo interno-carrier RNA (CARRIER)-tampone 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, cat. n. 72.693 o 72.694) o provette da 14 ml 17 x 100 mm in polistirolo a fondo tondo (Becton Dickinson, cat. n. 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 QIASymphony	Calcolo del volume per provetta della miscela di controllo interno-carrier RNA (CARRIER)-tampone AVE (AVE)
Microprovetta 2 ml con tappo; microprovetta 2 ml, PP, FLANGIATA, (Sarstedt, cat. n. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microprovetta 2 ml con tappo; microprovetta 2 ml, PP, NON-FLANGIATA, (Sarstedt, cat. n. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Provetta da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, cat. n. 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 µl = volume di miscela controllo interno-carrier RNA (CARRIER)-Tampone AVE (AVE); 360 µl = 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 riempire 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-carrier RNA (CARRIER)-Tampone AVE (AVE) (n = numero di campioni; 120 µl = volume di miscela di controllo interno-carrier RNA (CARRIER)-Tampone AVE (AVE); 600 µl = volume vuoto richiesto per provetta). Per esempio per 96 campioni (n = 96): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12.120 \mu\text{l}$.

Per gli inserti necessari, consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

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, è preferibile non usare il rilevamento del livello del liquido nelle provette secondarie. È disponibile materiale da laboratorio FIX specifico (per es. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) che è possibile anche selezionare sul touchscreen del QIASymphony 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. Sono disponibili liste di materiale da laboratorio da scaricare da www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Le provette campione da poter usare con o senza rilevamento del livello del liquido e i volumi di campione richiesti sono elencati in www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Non utilizzare volumi superiori o inferiori al volume richiesto poiché questo potrebbe determinare errori durante la preparazione dei campioni.

Le provette da usare con 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

Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le schede di dati di sicurezza (safety data sheets, SDS) disponibili presso il fornitore.

Campioni di plasma, siero e CSF

La procedura di purificazione è ottimizzata per l'uso con campioni di plasma, siero o CSF. È possibile utilizzare campioni di sangue trattati con EDTA oppure citrato come anticoagulante per la preparazione del plasma. I campioni possono essere sia freschi che congelati, a condizione che non siano stati congelati e scongelati più di una volta. Dopo la raccolta e la centrifuga, il plasma, il siero o il CSF possono essere conservati a 2–8 °C per un massimo di sei ore. Per intervalli di conservazione più lunghi, consigliamo di congelare le aliquote a –20 °C o –80 °C. Il plasma o il siero congelati non devono essere scongelati più di una volta. Il congelamento–decongelamento ripetuto causa la denaturazione e la precipitazione delle proteine, con una potenziale riduzione dei titoli virali e quindi delle rese di acidi nucleici virali. Se nei campioni sono visibili dei crioprecipitati, centrifugare a 6800 x g per tre minuti, trasferire i supernatanti per rinfrescare i tubi

senza disturbare i pellet ed avviare subito il processo di purificazione. La centrifugazione a basse forze-g non causa la riduzione dei titoli virali.

Limitazioni

I campioni di sangue trattati con attivatore di coagulazione possono causare una riduzione nella resa degli acidi nucleici virali. Non utilizzare provette per prelievo Greiner Bio-One® VACUETTE® contenenti Z Serum Clot Activator.

Cronologia delle revisioni

Documento cronologia delle revisioni	
R2 12/2017	Aggiornamento per la versione 5.0 del software QIA Symphony

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[®], Sample to Insight[®], QIASymphony[®] (Gruppo QIAGEN); BD[™] (Becton Dickinson and Company); Falcon[®] (Corning, Inc.); Bio-One[®], VACUETTE[®] (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt[®] (Sarstedt AG and Co.). 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-0301-S33-002 © 2017 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

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