



Luglio 2024

Scheda delle specifiche

QIAcuityDx[®] Universal MasterMix Kit

Versione 1

IVD

Per uso diagnostico in vitro

Per uso in laboratorio



REF

260101, 260102



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANIA

R1

MAT

1.134.829IT

Indice

Contenuto del kit.....	3
Trasporto e conservazione.....	4
Stabilità durante l'uso.....	4
Uso previsto.....	5
Principi attivi.....	5
Simboli.....	6
Informazioni sulla sicurezza.....	8
Universal MasterMix.....	9
Informazioni di emergenza.....	9
Descrizione e principio.....	10
Note preliminari.....	11
Procedura.....	13
Smaltimento.....	17
Controllo di qualità.....	18
Limitazioni.....	19
Risoluzione dei problemi.....	20
Informazioni per gli ordini.....	23
Cronologia delle revisioni del documento.....	24

Contenuto del kit

N. cat. Kit	260101 1 mL	260102 5 mL
QIAcuityDx Universal MasterMix	1 x 1180 µL	5 x 1180 µL
MgCl ₂ , 200 mM	1 x 1000 µL	2 x 1000 µL
RNase-free water	2 x 1,9 mL	5 x 1,9 mL

Trasporto e conservazione

Il QIAcuityDx Universal MasterMix Kit viene spedito in ghiaccio secco. Al ricevimento il kit deve essere immediatamente conservato in un freezer a temperatura costante compresa tra -30 e -15°C. Qualora uno dei componenti di QIAcuityDx Universal MasterMix Kit non dovesse essere congelato alla consegna, o la confezione esterna dovesse essersi aperta durante il trasporto, o la scatola non dovesse contenere la nota di accompagnamento o i reagenti, contattare i servizi tecnici QIAGEN o il distributore locale (visitare il sito www.qiagen.com).

Se conservato correttamente, QIAcuityDx Universal MasterMix Kit è stabile fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta.

Non utilizzare il kit se non è stato conservato secondo le specifiche, se l'imballaggio è stato danneggiato o vi sono altri segni visibili di deterioramento o malfunzionamento.

Stabilità durante l'uso

Dopo l'apertura, i reagenti possono essere conservati nella loro confezione originale a una temperatura compresa tra -30 e -15 °C, fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. Evitare di scongelare e congelare ripetutamente. Non superare il numero massimo di cinque cicli di congelamento-decongelamento.

I reagenti devono essere completamente scongelati a temperatura ambiente (15–25 °C) per un massimo di 30 minuti prima dell'uso.

Uso previsto

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit è un set di reagenti per miscela master pronti per l'uso per dPCR per uso generale, da utilizzare con lo strumento QIAcuityDx Four insieme ai reagenti associati specifici per gli esami, nell'ambito di procedure diagnostiche convalidate.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit non è un dispositivo automatico ed è destinato all'uso in laboratorio da personale opportunamente formato.

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit è destinato all'uso diagnostico *in vitro*.















È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni del sistema per qualunque procedura utilizzata in laboratorio che non sia stata già oggetto di uno studio di valutazione delle prestazioni da parte di QIAGEN.

Principi attivi

Reagente	Nome	Principio attivo	Concentrazione (% p/p)
Miscela master	QIAcuityDx Universal MasterMix	QuantiNova® DNA Polymerase (5,6 U/μl)	12%
		dNTP Mix (10 mM cad.)	10%
Cloruro di magnesio	MgCl ₂ , 200 mM	Nessuna	–
Acqua	Acqua priva di RNasi	Nessuna	–

Simboli

I seguenti simboli possono apparire nelle istruzioni per l'uso o sulla confezione e sull'etichettatura:

	Questo prodotto soddisfa i requisiti del regolamento europeo (UE) 2017/746 per i dispositivi medici diagnostici in vitro (IVDR).
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Numero di catalogo
	Numero di materiale
	Numero di lotto
	Codice GTIN (Global Trade Item Number)
	UDI (identificatore univoco del dispositivo)
	Contiene
	Componente
	Numero
	Data di produzione
	R indica la revisione della scheda prodotto e n il numero della revisione
	V indica la versione della scheda prodotto e n il numero della versione
	Utilizzare entro la data indicata



Limiti di temperatura



Produttore legale



Consultare le istruzioni per l'uso



<N>

Contenuto di reagenti sufficiente per <N> reazioni



Tenere al riparo dalla luce



Avvertenza



Rischi per la salute

Informazioni sulla sicurezza

Quando si utilizzano sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio adeguato, guanti monouso e occhiali di protezione. Per maggiori informazioni, consultare le corrispondenti schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS). Le schede SDS, nel pratico e compatto formato PDF, sono disponibili online all'indirizzo www.qiagen.com/safety. Qui è possibile trovare, visualizzare e stampare la scheda SDS per ciascun kit QIAGEN® e i relativi componenti.

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

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

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit contiene QuantiNova DNA Polymerase, prodotto con un processo di fermentazione batterica. L'enzima viene purificato dai microbi al termine della lavorazione per eliminare qualsiasi fonte residua di materiale potenzialmente infettivo.

Universal MasterMix



Contiene: 2-metilisotiazol-3(2H)-one; 1,2,4-triazolo. Può provocare una reazione allergica cutanea. Può nuocere alla fertilità o al feto. Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso. Non maneggiare il prodotto prima di aver letto e compreso tutte le precauzioni di sicurezza. Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso. IN CASO di esposizione o di possibile esposizione: consultare il medico. Conservare sotto chiave. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto ufficialmente approvato per lo smaltimento dei rifiuti.

Informazioni di emergenza

CHEMTRAC

USA e Canada: 1-800-424-9300

Al di fuori di USA e Canada: +1 703-527-3887

Descrizione e principio

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit comprende una miscela master pronta all'uso per dPCR contenente la chimica di reazione sotto forma di tampone per PCR, il colorante di riferimento proprietario e provette separate con 200 mM di cloruro di magnesio ($MgCl_2$) 100% p/p e acqua priva di RNasi 100% p/p.

L'elenco completo dei materiali da utilizzare con QIAcuityDx Universal MasterMix Kit è riportato nel *Manuale utente del sistema QIAcuityDx*.

Questo protocollo è ottimizzato per la quantificazione dei target di DNA o cDNA utilizzando QIAcuityDx Universal MasterMix Kit con sonde TaqMan® in una reazione singleplex o multiplex nel sistema QIAcuityDx.

Note preliminari

- Un colorante fluorescente viene fornito come componente di QIAcuityDx Universal MasterMix Kit per il rilevamento affidabile del corretto riempimento delle partizioni nelle nanoplastre compatibili con QIAcuityDx.
- Per ottenere la massima efficienza dell'esame dPCR utilizzando le sonde TaqMan, gli ampliconi dovrebbero avere una lunghezza ideale di 60–150 bp. Analogamente alla qPCR, è possibile utilizzare ampliconi più lunghi, tuttavia le prestazioni dell'esame potrebbero risultare compromesse.
- Prima di eseguire le analisi multiplex, scegliere combinazioni adeguate di coloranti reporter e quencher compatibili con le analisi multiplex utilizzando l'ottica di rilevazione dello strumento QIAcuityDx Four (vedere Tabella 1).

Importante: Una correzione integrata della diafonia viene applicata alle immagini generate dallo strumento QIAcuityDx Four. Questa correzione serve a ridurre al minimo gli effetti della sovrapposizione spettrale tra canali ottici e fluorofori vicini. L'uso di coloranti non supportati può comportare una correzione non ottimale della diafonia.

Tabella 1. Canali ottici e fluorofori supportati per lo strumento QIAcuityDx Four

Canale	Eccitazione (nm)	Emissione (nm)	Fluorofori supportati
Green	463–503	518–548	FAM™
Yellow	514–535	550–564	HEX™
Orange	543–565	580–606	TAMRA™
Red	570–596	611–653	ROX™
Crimson	590–640	654–692	Cy5®

- Coloranti quencher non fluorescenti dovrebbero essere utilizzati con ogni sonda. In alcuni esami possono essere utilizzate sonde con doppio quenching per migliorare il rapporto segnale/rumore.

- Si raccomanda di iniziare lo sviluppo dell'esame con le condizioni di ciclizzazione e le concentrazioni dei primer specificate in questo protocollo. Le condizioni di ciclizzazione prevedono che la PCR debba iniziare con un passaggio iniziale di incubazione di 2 minuti a 95 °C per attivare QuantiNova DNA Polymerase nel QIAcuityDx Universal MasterMix Kit.
- Per praticità d'uso, si consiglia di preparare una miscela primer-sonda a concentrazione 10x o superiore, contenente primer e sonda specifici per ciascun target. Una miscela primer-sonda 10x è costituita da 1–8 µM di primer diretto, 1–8 µM di primer inverso e 0,5–4 µM di sonda in tampone TE con basso EDTA (0,1 mM).
- DNA stampo con una lunghezza media >30 kb potrebbe dover essere frammentato mediante digestione di restrizione prima della partizione. La frammentazione enzimatica di DNA più grande assicura una distribuzione uniforme del template in tutta la nanopiastra compatibile con QIAcuityDx, che a sua volta garantisce una quantificazione accurata e precisa. La digestione di restrizione non è necessaria per il DNA altamente frammentato (ad esempio DNA FFPE o DNA circolante) o per il cDNA. Occorre prestare attenzione nell'utilizzare enzimi che non taglino la sequenza amplificata; si raccomanda pertanto l'uso di enzimi di restrizione.
- Le quantità di campioni immessi devono essere basate sui numeri di partizione delle nanopiastrine, con un limite massimo di 5 copie per partizione quando si utilizza la rilevazione basata sulla sonda TaqMan (Tabella 2). L'intervallo ideale di copie/partizione è compreso tra 0,5 e 3. Se non è possibile determinare il numero di copie prima dell'inizio dell'esperimento, si consiglia di eseguire un esperimento di titolazione iniziale per determinare la quantità ottimale di immissione di campione.

Tabella 2. Numero massimo di copie per reazione per tipo di piastra

Tipo di piastra	Numero di partizioni	Limite massimo di copie per reazione	Volume analizzato (µL)	Totale volume di reazione (µL)	Numero massimo di copie per volume analizzato	Numero massimo di copie previsto per volume analizzato
Nanopiastrine 8,5k	8.500	5	2,9	13	42.500	170.000
Nanopiastrine 26k	26.000	5	24,0	42	130.000	217.000

Procedura

1. Scongellare la QIAcuityDx Universal MasterMix, il cloruro di magnesio, il DNA stampo o il cDNA, la miscela primer-sonda e l'acqua priva di RNasi a temperatura ambiente per un massimo di 30 minuti.
2. Miscelare ciascuna soluzione in vortex alla massima velocità per 3–5 secondi. Centrifugare brevemente le provette dopo la miscelazione affinché il liquido si depositi sul fondo della provetta.
3. Preparare una miscela master per l'esame per il numero di reazioni necessarie secondo la Tabella 3, meno il template/controllo senza template (NTC). Non è necessario mantenere i campioni su ghiaccio durante l'impostazione della reazione o nei passaggi successivi.

Tabella 3. Impostazione raccomandata per la miscela master dell'esame

Componente	Volume/pozzetto (nanoplastre 8,5k, 24/96 pozzetti)	Volume/pozzetto (nanoplastre 26k, 24 pozzetti)	Concentrazione finale
QIAcuityDx Universal MasterMix	3,3 µL	11 µL	1x
MgCl ₂ , 200 mM	0,41 µL*	1,38 µL*	6,28 mM*
Miscela 10x primer-sonda (per esame)†	1,32 µL†	4,4 µL†	0,1–0,8 µM di primer diretto 0,1–0,8 µM di primer inverso 0,05–0,4 µM di sonda
Enzima di restrizione (opzionale)	Fino a 1 µL	Fino a 1 µL	0,025–0,25 U/µL
Acqua priva di RNasi	Variabile	Variabile	
DNA stampo o cDNA (aggiunto al passaggio 5)	Variabile‡	Variabile‡	
Totale	13,2 µL	44 µL	

*Concentrazione iniziale raccomandata, il volume può variare a seconda dell'ottimizzazione.

†Il volume può variare a seconda della concentrazione della miscela primer-sonda utilizzata e della concentrazione finale del target.

‡Le quantità di template appropriate dipendono da vari parametri; consultare le note prima di iniziare.

- Miscelare la miscela master in vortex alla massima velocità per 3–5 secondi. Centrifugare brevemente.
- Erogare i volumi appropriati della miscela master dell'esame, che contiene tutti i componenti tranne il template/controllo senza template (NTC), nei pozzetti di una piastra per PCR standard o in provette LoBind. Aggiungere quindi il DNA stampo/NTC in ogni pozzetto/provetta al volume appropriato per il proprio esame (vedere le Note preliminari).

Nota: Per la RT-PCR in 2 passaggi, il volume di cDNA aggiunto (dalla reazione di trascrizione inversa non diluita) non deve superare il 15% del volume finale della PCR.

6. Miscelare la miscela secondaria (miscela master dell'esame e template) in una piastra per PCR pipettando su e giù per 10 volte nel pozzetto o, se la miscelazione avviene in una provetta, miscelando in vortex alla massima velocità per 3-5 secondi. Centrifugare brevemente la piastra/provetta affinché il liquido si depositi sul fondo del pozzetto/della provetta.
7. Trasferire immediatamente il contenuto di ogni pozzetto/provetta nei pozzetti della nanopiastra.

Nota: assicurarsi che non si creino bolle d'aria durante il trasferimento alla nanopiastra eseguendo la pipettatura fino al primo arresto. Assicurarsi di pipettare la miscela nel pozzetto di ingresso e non in quello di uscita. Per evitare di danneggiare la superficie ottica e ridurre la polvere che interferisce con la creazione delle immagini e l'analisi dei risultati, si consiglia di posizionare la nanopiastra in un vassoio apposito prima di pipettare la miscela di reazione al suo interno. Prima dell'uso, pulire il vassoio per nanopiastrre con un tessuto che non lascia pelucchi.

8. Sigillare correttamente le nanopiastrre utilizzando i copripiastrre forniti nei kit di piastrre.

Nota: per l'esatta procedura di sigillatura, consultare il *Manuale utente del sistema QIAcuityDx*.

9. Se nella reazione è stato incluso un enzima di restrizione per la digestione del DNA, lasciare la piastra per 10 minuti a temperatura ambiente.
10. Programmare il termociclatore dello strumento QIAcuityDx Four in base alla Tabella 4.

Tabella 4. Condizioni di ciclizzazione per dPCR consigliate

Passaggio	Durata	Temperatura (°C)	N° di cicli
Attivazione calore iniziale per PCR	2 min	95	1
Denaturazione	15 s	95	40*
Annealing/estensione combinate	30 s*	60	

*Temperatura/durata/numero di cicli possono variare a seconda del tipo di esame.

11. Posizionare la nanopiastra nello strumento QIAcuityDx Four e avviare il programma dPCR secondo il *Manuale utente del sistema QIAcuityDx*.

Smaltimento

Smaltire il prodotto usato e non usato in conformità alle normative locali e nazionali. Seguire le raccomandazioni incluse nelle schede tecniche di sicurezza (SDS).

Controllo di qualità

In conformità con il Sistema di Gestione della Qualità certificato ISO di QIAGEN, ogni lotto del QIAcuityDx Universal MasterMix Kit viene testato in base a specifiche predeterminate per garantire una qualità costante del prodotto.

Limitazioni

Le prestazioni del QIAcuityDx Universal MasterMix Kit sono state determinate con gli esami QIAGEN downstream applicabili. Per istruzioni dettagliate sulla manipolazione di questo prodotto all'interno del flusso di lavoro corrispondente, consultare le istruzioni per l'uso della rispettiva applicazione downstream di QIAGEN.

È responsabilità dell'utente convalidare le prestazioni per qualunque esame utilizzato in laboratorio che non sia stato già oggetto di uno studio di valutazione delle prestazioni da parte di QIAGEN. Per minimizzare il rischio di un impatto negativo sui risultati diagnostici, è necessario ricorrere ad adeguati controlli delle applicazioni downstream. 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).

QIAcuityDx Universal MasterMix Kit non è prodotto secondo procedure di produzione sterili, pertanto può contenere altri ingredienti che potrebbero influenzare la misurazione. Durante le applicazioni downstream sarebbe necessario eseguire controlli adeguati se è possibile che vi sia un rischio aumentato di un impatto negativo sul risultato diagnostico.

Risoluzione dei problemi

Questa sezione fornisce informazioni sulle contromisure da adottare in caso di problemi con l'uso di QIAcuityDx Universal MasterMix Kit. Se è necessaria ulteriore assistenza contattare il servizio di assistenza tecnica di QIAGEN utilizzando le informazioni di contatto di seguito, specifiche per Paese:

Sito web: support.qiagen.com

Problema	Commenti e suggerimenti
-----------------	--------------------------------

Amplificazione NTC

Caratteristiche dell'esame	Riformulare primer/sonde. Ottimizzare le condizioni dell'esame variando la concentrazione della sonda e dei primer e la concentrazione di $MgCl_2$.
Contaminazione dei reagenti	Eliminare i reagenti e ripetere l'esame utilizzandone di nuovi.
Contaminazione durante l'impostazione dell'esame	Adottare precauzioni contro la contaminazione decontaminando l'area di lavoro con detergenti appropriati.

Nessuna amplificazione

Condizioni non ottimizzate per la PCR	Prolungare il tempo di denaturazione iniziale. Prolungare il tempo di annealing/estensione.
Templato di partenza insufficiente	Aumentare la quantità/concentrazione del templato di partenza aggiunto alla miscela master dell'esame.

Flag di saturazione

Sovrasaturazione delle sonde	Ridurre il tempo di esposizione nei parametri di imaging. Ridurre il guadagno nei parametri di imaging.
------------------------------	--

Separazione insufficiente tra cluster positivi e negativi

Caratteristiche dell'esame	Ottimizzare le condizioni dell'esame variando la concentrazione della sonda e dei primer e la concentrazione di $MgCl_2$. Passare alle sonde TaqMan con doppio quenching per aumentare il rapporto segnale/rumore.
Condizioni non ottimizzate per la PCR	Prolungare il tempo di denaturazione iniziale. Prolungare il tempo di annealing/estensione.

Differenze osservate nei valori assoluti di quantificazione inter-sessione

Aggiunta insufficiente di QIAcuityDx Universal MasterMix	Assicurarsi che la concentrazione finale di QIAcuityDx Universal MasterMix nella miscela secondaria sia 1x (dalla soluzione madre 4x).
Variazione del tempo di scongelamento/impostazione	Tempi di scongelamento/impostazione prolungati possono avere un impatto negativo sui valori assoluti di quantificazione. Per ottenere prestazioni ottimali, i reagenti devono essere scongelati per un massimo di 30 minuti e, una volta preparata la miscela secondaria (miscela master dell'esame + templato), devono essere immediatamente caricati sulla nanopiastra. Se sono necessari tempi di scongelamento/impostazione prolungati, questi devono essere adattati per ogni esame per garantire che eventuali variazioni nella quantificazione assoluta non influiscano sui risultati finali.

Problema

Commenti e suggerimenti

Condizioni non ottimizzate per la PCR

Ottimizzare la temperatura di denaturazione.

Ottimizzare la temperatura di annealing/estensione.

Risultati incoerenti tra i pozzetti della nanopiastra

Condizioni non ottimizzate per la PCR

Ottimizzare il tempo di attivazione aumentandolo da 2 a 15 minuti.

Informazioni per gli ordini

Prodotto	Contenuto	N. cat.
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (1 mL)	Per preparare fino a quattro QIAcuityDx Nanoplates: 1 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 1 x MgCl ₂ , 200 mM, 2 x acqua priva di RNasi	260101
QIAcuityDx Universal MasterMix Kit (5 mL)	Per preparare fino a venti QIAcuityDx Nanoplates: 5 x QIAcuityDx Universal MasterMix, 2 x MgCl ₂ , 200 mM, 5 x acqua priva di RNasi	260102

Manipolare i prodotti con la massima cura e attenzione. Si consiglia a tutti gli utenti dei prodotti QIAGEN® di osservare tutte le normative locali applicabili nonché le norme e le linee guida in vigore.

Cronologia delle revisioni del documento

Data	Modifiche
R1, luglio 2024	Versione iniziale

Contratto di licenza limitata per QIAcuityDx® Universal MasterMix 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 le condizioni di licenza aggiornate, consultare il sito www.qiagen.com.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcuityDx®, QuantiNova® (QIAGEN Group); Cy® (GE Healthcare); Taqman® (Roche Molecular Systems, Inc.); FAM™, HEX™, ROX™, TAMRA™, (Thermo Fisher Scientific o sue consociate). I marchi, nomi registrati, ecc., utilizzati nel presente documento, anche se non contrassegnati specificamente come tali, vanno considerati protetti dalla legge.

07/2024 HB-3592-001 © 2024 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

Pagina lasciata vuota intenzionalmente.

Pagina lasciata vuota intenzionalmente.

Pagina lasciata vuota intenzionalmente.

