

Dicembre 2017

Scheda del protocollo QIASymphony[®] SP

Protocollo VirusBlood200_V5_DSP

Questo documento è la scheda del protocollo *QIASymphony SP VirusBlood200_V5_DSP*, revisione 2, per QIASymphony DSP DNA Mini Kit, versione 1.

Informazioni generali

Il kit QIA Symphony DSP DNA è studiato per l'uso diagnostico in vitro.

Questo protocollo è previsto per la purificazione del DNA virale da sangue umano intero fresco utilizzando il QIA Symphony® SP e il kit QIA Symphony DSP DNA Mini. Il DNA di virus rilasciati e di virus cellulo-associati viene copurificato assieme al DNA genomico dalle cellule ematiche.

Kit	Kit QIA Symphony DSP DNA Mini (cat. n. 937236)
Campioni	Sangue umano intero (trattato con anticoagulante EDTA o citrato)
Nome del protocollo	VirusBlood200_V5_DSP
Set di controllo del test predefinito	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Parte modificabile	Volume di eluizione: 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
Versione del software necessaria	Versione 4.0 o superiore

Cassetto "Sample" (Campione)

Tipo di campione	Sangue umano intero (trattato con anticoagulante EDTA o citrato)
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 .
Inseri	Dipendono dal tipo di provetta per campioni utilizzata; per maggiori informazioni consultare www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Altro materiale	È necessaria una miscela di controllo interno-tampone ATE; l'utilizzo del controllo interno è opzionale

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

Posizione A1 e/o A2	Cartuccia reagenti
Posizione B1	n/a
Supporto per rack per puntali 1-17	Puntali con filtro monouso, 200 µl o 1500 µl
Supporto per box unitari 1-4	Box unitari contenenti cartucce per la preparazione dei campioni o 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 vuoto

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 ^{††}	26	50	74	98
Puntali con filtro monouso, 1500 µl ^{††}	98	188	278	368
Cartucce per la preparazione dei campioni [§]	21	42	63	84
Coperchi per 8 barre [¶]	3	6	9	12

* 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 in ogni rack corrispondente.

†† 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.

Volume di eluizione selezionato

Volume di eluizione selezionato (µl)*	Volume di eluizione iniziale (µl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* 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 necessario per garantire il volume effettivo di eluito è identico al volume selezionato.

Preparazione della miscela di controllo interno–tampone ATE

L'utilizzo del protocollo VirusBlood200_V5_DSP in combinazione con sistemi di amplificazione che fanno uso di un controllo interno potrebbe richiedere l'inserimento di questo controllo interno nella procedura di purificazione per monitorare l'efficienza della preparazione dei campioni e del test a valle.

La quantità di controllo interno aggiunta dipende dal sistema del test e dal volume di eluizione selezionato nel protocollo VirusBlood200_V5_DSP. Il calcolo e la convalida devono essere effettuati dall'utente. Consultare le istruzioni del produttore del test a valle per stabilire la concentrazione ottimale del controllo interno.

Il controllo interno deve essere aggiunto con la miscela di controllo interno–tampone ATE (ATE) in un volume totale di 60 µl. Una miscela di controlli interni può essere utilizzata per analizzare diversi parametri di un singolo eluito. L'utente deve convalidare la compatibilità dei diversi controlli interni. Si consiglia di preparare miscele fresche per ogni analisi subito prima dell'uso. Se non si utilizzano controlli interni, è comunque necessario utilizzare il tampone ATE.

Volume di eluizione selezionato (µl)	Volume di eluizione iniziale (µl)	Volume del controllo interno (µl)*	Volume del tampone ATE (ATE) (µl)	Volume finale per campione (µl)
60	90	9	51	60
85	115	11.5	48.5	60
110	140	14	46	60
165	195	19.5	40.5	60

* 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–tampone ATE per un test a valle che richiede 0,1 µl di controllo interno/µl di eluito.

Le provette contenenti miscele di controllo interno-tampone ATE vengono collocate in un portaprovette. Il portaprovette contenente la/e miscela/e di controllo interno-tampone ATE deve essere collocato nell'apertura A del cassetto "Sample".

A seconda del numero di campioni da processare, si consiglia di utilizzare provette da 2 ml (Sarstedt®, cat. n. 72.693 o 72.694) o provette da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson (BD™), cat. n. 352051) per diluire il controllo interno, come descritto nella tabella sottostante. È possibile dividere il volume in 2 o più provette.

Calcolo del volume della miscela di controllo interno

Tipo di provetta [‡]	Nome sul touch screen QIA Symphony	Calcolo del volume della miscela di controllo interno per provetta
Microprovetta da 2 ml con tappo; microprovetta da 2 ml, PP, FLANGIATA, (Sarstedt, cat. n. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microprovetta da 2 ml con tappo; microprovetta da 2 ml, PP, NON FLANGIATA, (Sarstedt, cat. n. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Provetta da 14 ml, 17 x 100 mm, in polistirene a fondo tondo (Becton Dickinson, cat. n. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utilizzare questa equazione per calcolare il volume necessario della miscela di controllo interno (n = numero di campioni; $60 \mu\text{l}$ = volume di miscela di controllo interno-tampone ATE; $360 \mu\text{l}$ = volume vuoto necessario per provetta). Per esempio per 12 campioni ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Non riempire la provetta con più di 1,92 ml (ossia un massimo di 26 campioni per provetta). Per processare più di 26 campioni, usare provette supplementari, assicurandosi di aggiungere il volume vuoto per ogni provetta.

† Utilizzare questa equazione per calcolare il volume necessario della miscela di controllo interno-tampone ATE (n = numero di campioni; $60 \mu\text{l}$ = volume della miscela di controllo interno-tampone ATE; $600 \mu\text{l}$ = volume vuoto necessario per ogni provetta). Per esempio per 96 campioni ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

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

Preparazione dei campioni

Durante l'uso di sostanze chimiche, indossare sempre un adeguato camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali di protezione. Per maggiori informazioni, consultare le rispettive schede tecniche di sicurezza (SDS), reperibili presso il fornitore.

Sangue umano intero

Per l'isolamento del DNA virale si consiglia di utilizzare campioni di sangue intero trattati con EDTA o citrato. I campioni devono essere processati entro 24 ore dalla raccolta. Conservare o trasportare i campioni a 2–25°C. Per una conservazione prolungata si consiglia di congelare le aliquote a –20°C o –80°C.

Se si utilizzano campioni di sangue fresco in provette primarie, miscelare accuratamente i campioni di sangue (ad es. capovolgendo più volte le provette) prima di caricarli sul QIASymphony SP. 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.

Cronologia delle revisioni

Documento cronologia delle revisioni	
R1 12/2017	Aggiornamento per la versione 5.0 del software QIASymphony

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per i disclaimer specifici dei prodotti consultare il manuale del kit QIAGEN® specifico. I manuali dei kit QIAGEN e i manuali utente sono disponibili all'indirizzo www.qiagen.com oppure possono essere richiesti al servizio di assistenza tecnica QIAGEN o al proprio distributore locale.

Marchi: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Gruppo QIAGEN); BD™, (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). I marchi, nomi registrati, ecc., utilizzati nel presente documento, anche se non contrassegnati specificamente come tali, vanno considerati protetti dalla legge.
12/2017 HB-0977-S07-002 © 2017 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

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