

Istruzioni per l'uso (scheda di protocollo) del QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA Kit

circDNA_2000_DSP_V2 e circDNA_4000_DSP_V2

Versione 2

IVD

Per uso diagnostico in vitro

Per l'uso con il QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit

CE

REF

937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R1

La scheda di protocollo è disponibile in formato elettronico nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Informazioni generali

Per uso diagnostico in vitro.

Questo protocollo è destinato alla purificazione del DNA libero circolante da plasma e urina umani freschi o congelati utilizzando il QIASymphony DSP Circulating DNA Kit e lo strumento QIASymphony SP.

Kit	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit	
Numero di catalogo	937556	
Materiale campione	Plasma umano: <ul style="list-style-type: none">da provette di raccolta per prelievo ematico con stabilizzatori di profilo del ccfDNA (ad esempio Cell-Free DNA BCT[®], Streck[®])da provette di raccolta per prelievo ematico senza stabilizzatori di profilo del ccfDNA (ad esempio con EDTA) Urina umana: <ul style="list-style-type: none">con stabilizzatori di profilo del cfDNAsenza stabilizzatori di profilo del cfDNA	
Nome del protocollo	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
Set di controllo dell'esame predefinito	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
Volume di eluizione	60 µl	60 µl
Versione del software richiesta	Versione 4.0 o superiore	Versione 5.0 o superiore
Configurazione del software richiesta per uso IVD	Default Profile 1 (Profilo di default 1)	Default Profile 1 (Profilo di default 1)

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 tecniche di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) disponibili presso il fornitore.

Cassetto "Sample" (Campione)

Tipo di campione	Plasma e urina umani (vedere "Preparazione dei campioni")
Volume del campione	A seconda del tipo di provetta per campioni utilizzata Per maggiori informazioni, consultare l'elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com .
Provette per campioni primarie	n/d
Provette per campioni secondarie	Per maggiori informazioni, consultare l'elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com .
Inserti	n/d
Altro	La proteinasi K deve essere aggiunta nello slot A (posizione 1, 2 e/o 3)

n/a = non applicabile.

Preparazione della proteinasi K nel cassetto "Sample"

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

Nota: le provette contenenti proteinasi K vengono collocate in un portaprovette. Le provette contenenti la proteinasi K devono essere collocate nelle posizioni 1, 2 e/o 3 nello slot A del cassetto "Sample" (Campione). Per il tipo di provetta necessario, consultare l'elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Numero di campioni *	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11.660
72	9020	18.040 [†]
96	11.660	23.320 [†]

* Per ogni campione sono necessari 110 µl per circDNA_2000_DSP o 220 µl per circDNA_4000_DSP, più un ulteriore volume vuoto di 1.100 µl [(n x 110 o 220 µl) + 1.100 µl].

[†] Per circDNA_4000_DSP: Se vengono processati più di 48 campioni, utilizzare una seconda provetta. Il volume massimo di caricamento per provetta è di 11.660 µl. Per la seconda provetta è necessario un volume vuoto supplementare di 1.100 µl.

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

Posizione A1 e/o A2	Cartuccia reagenti (Reagent Cartridge, RC)
Posizione B1	n/d
Supporto per rack per puntali 1-18	Disposable filter-tips, 200 o 1500 µl
Supporto per box unitari 1-4	Box unitari contenenti cartucce per la preparazione dei campioni o 8-Rod Covers

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 l'elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com.

Plastica da laboratorio occorrente

Protocollo circDNA_2000_DSP

Plastica da laboratorio	Un lotto 24 campioni*	Due lotti 48 campioni*	Tre lotti 72 campioni*	Quattro lotti 96 campioni*
Disposable filter-tips, 200 µl†	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†	56	112	168	224
Sample prep cartridges‡	15	30	45	60
8-Rod Covers§	3	6	9	12

* 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 RC.

§ Ci sono 28 cartucce per la preparazione dei campioni in ogni box unitario.

¶ Ci sono dodici 8-Rod Covers in ogni box unitario.

Protocollo circDNA_4000_DSP

Plastica da laboratorio	Un lotto 24 campioni*	Due lotti 48 campioni*	Tre lotti 72 campioni*	Quattro lotti 96 campioni*
Disposable filter-tips, 200 µl†	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†	96	192	288	384
Sample prep cartridges‡	18	36	54	72
8-Rod Covers§	3	6	9	12

* 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 RC.

§ Ci sono 28 cartucce per la preparazione dei campioni in ogni box unitario.

¶ Ci sono dodici 8-Rod Covers 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

Volume di eluizione selezionato	Volume di eluizione iniziale
60 µl	75 µl

Il volume di eluizione viene selezionato sul touch screen. Il volume di eluizione medio disponibile è ≥ 60 µl. In singoli casi, il volume di eluito finale per i singoli campioni potrebbe essere inferiore anche di 5 µl rispetto al volume selezionato (ad es., 55 µl). Si consiglia di controllare l'effettivo volume di eluito quando si utilizza un sistema automatizzato di setup dell'esame che non verifica il volume di eluito prima del trasferimento.

Conservazione degli eluiti

Nota: la stabilità degli eluiti dipende in larga misura da vari fattori e si riferisce all'applicazione specifica a valle. È stato stabilito per il QIASymphony 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.

Si consiglia di rimuovere la piastra di eluizione dal cassetto "Eluate" (Eluito) subito dopo la fine del processo. Le piastre per eluizione possono essere lasciate nel QIASymphony SP al termine del processo il giorno seguente (massimo 16 ore, inclusa la durata del processo stesso; condizioni ambientali raccomandate: 18–26°C e umidità relativa del 20–75%). In base alla temperatura e al grado di umidità, l'eluito potrebbe essere esposto a formazione di condensa o evaporazione.

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 3 volte.

Preparazione dei campioni

Nota: la stabilità del campione dipende in larga misura da vari fattori e si riferisce all'applicazione specifica a valle. È stato stabilito per il QIASymphony 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.

Plasma umano

Quando si utilizzano provette di raccolta per prelievo ematico con stabilizzatori del profilo del ccfDNA, devono essere seguite le istruzioni del fabbricante per eseguire preparazione, conservazione, trasporto e manipolazione generale del plasma. Quando si utilizzano provette di raccolta per prelievo ematico senza stabilizzatori del profilo del ccfDNA, se disponibili, devono essere seguite le istruzioni del fabbricante su preparazione, conservazione, trasporto e manipolazione generale del plasma. Per maggiori dettagli, fare riferimento alla norma ISO 20186-3:2019 (E) Molecular in vitro diagnostic examinations – Specifications for pre-examination processes for venous whole blood – Parte 3: Isolated circulating cell free DNA from plasma.

Indipendentemente dalle istruzioni del fabbricante della provette di raccolta per prelievo ematico, si devono considerare i seguenti aspetti conformemente alla norma ISO 20186-3:2019 (E) per l'estrazione in automatico di ccfDNA da plasma, utilizzando il QIASymphony DSP Circulating DNA Kit e lo strumento QIASymphony SP.

I campioni di sangue senza stabilizzatore del profilo del ccfDNA possono essere usati per la preparazione del plasma (ad esempio in provetta di raccolta per il prelievo di sangue trattato con EDTA). Anche il plasma preparato da provette con stabilizzatore del profilo del ccfDNA può essere utilizzato (ad esempio in Cell-Free DNA BCT di Streck).

Se si utilizza EDTA o citrato come anticoagulante, si raccomanda di eseguire la separazione del plasma subito dopo la donazione di sangue.

Per determinate applicazioni a valle potrebbe essere necessario escludere o ridurre al minimo gli acidi nucleici dalle vescicole. In tali casi, si consiglia di eseguire una fase di centrifugazione ad alta velocità a 16.000 x g per 10 minuti a temperatura ambiente (15–25°C) dopo la generazione di plasma iniziale.

Dopo il prelievo e la centrifugazione, il plasma può essere conservato a temperatura ambiente fino a 7 giorni oppure a 2–8°C fino a 14 giorni. Per intervalli di conservazione fino a 24 mesi, si consiglia di congelare le aliquote a –20°C o –80°C. Il plasma congelato non deve essere scongelato più di 3 volte. Il congelamento–decongelamento ripetuto causa la denaturazione e la precipitazione delle proteine, con la conseguente riduzione delle rese degli acidi nucleici liberi circolanti. Si raccomanda di scongelare il plasma in un bagno d'acqua a 30°C per 30 minuti. Se nel campione sono visibili crioprecipitati, questi devono essere rimossi prima di caricare il campione nello strumento. I crioprecipitati possono essere sciolti agitando il campione su vortex (assicurarsi che la schiuma, se visibile nella parte superiore del campione, sia rimossa prima di caricare il campione nello strumento). In alternativa, i crioprecipitati possono essere rimossi per centrifugazione e trasferimento del supernatante in una provetta per campioni secondaria senza disturbare le particelle (vedere l'elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com). Avviare immediatamente il processo di purificazione.

Urina umana

A causa della rapida degradazione del ccfDNA dopo la raccolta di urina, si raccomanda vivamente di stabilizzare subito i campioni. Applicazioni a valle esemplari sono state utilizzate per il QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit per determinare le raccomandazioni per la gestione e la stabilizzazione dell'urina. Sebbene il kit sia usato come front-end per diverse applicazioni a valle, la gestione dell'urina deve essere determinata per ogni flusso di lavoro come parte dello sviluppo dell'applicazione a valle. In alternativa, quando si utilizza uno stabilizzatore del profilo del cfDNA per l'urina disponibile in commercio, si devono seguire le istruzioni del fabbricante.

Urina umana stabilizzata

L'urina stabilizzata può essere conservata a temperatura ambiente (15–25 °C) o a 2–8 °C fino a 7 giorni. Per intervalli di conservazione fino a 24 mesi, si consiglia di congelare le aliquote a –20°C o –80°C.

I campioni di urina stabilizzata non richiedono alcun pretrattamento. Dopo la stabilizzazione, si consiglia di centrifugare i campioni di urina a bassa velocità (1.900 x g) per 10 minuti a temperatura ambiente (15–25°C) per eliminare le cellule prima dell'estrazione del ccfDNA. Se dopo la centrifugazione nei supernatanti sono visibili dei precipitati, riscaldare i campioni a 25 °C in un bagno d'acqua per dissolverli. Prima di avviare un processo, trasferire i campioni di urina stabilizzati in una provetta per campioni secondaria, quindi caricare la provetta sul portacampioni (vedere l'elenco della plastica da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com).

Urina umana "non stabilizzata"

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

Nota: Buffer ATL (4 x 50 ml, n. cat. 939016) non è incluso nel QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit e deve essere ordinato separatamente.

Si consiglia di centrifugare i campioni di urina subito dopo il prelievo a bassa velocità (1.900 x g) per 10 minuti a temperatura ambiente (15–25°C) per eliminare le cellule. I campioni di urina non stabilizzata richiedono un pretrattamento.

Importante: portare i campioni a temperatura ambiente (15–25 °C) prima di iniziare il pretrattamento.

Importante: la centrifugazione e il pretrattamento dei campioni di urina devono essere eseguiti entro 4 ore dal prelievo.

- Miscelare 2.500 µl di urina (circDNA_2000_DSP) o 4.500 µl di urina (circDNA_4000_DSP) rispettivamente con 250 µl o 450 µl di Buffer ATL.
- Incubare i campioni a temperatura ambiente (15–25°C) per 1 ora.
- Centrifugare i campioni a 1.900 x g per 10 minuti a temperatura ambiente (15–25°C).
- Se dopo la centrifugazione nel supernatante sono visibili dei precipitati, riscaldare i campioni a 25 °C in un bagno d'acqua per dissolverli.
- Trasferire i supernatanti in una provetta per campioni secondaria, quindi caricare la provetta sul portacampioni (vedere l'elenco del materiale da laboratorio disponibile nella scheda delle risorse della pagina prodotti all'indirizzo www.qiagen.com).

Importante: nell'urina non stabilizzata, la stabilità e l'integrità del ccfDNA sono limitate. Si consiglia di caricare al massimo un lotto di 24 campioni per ogni processo eseguito su QIAAsymphony per ridurre al minimo il tempo a bordo dei campioni di urina.

Punti importanti prima di caricare i campioni


















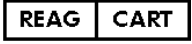
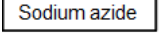


- Evitare la formazione di schiuma all'interno o sui campioni.
- I campioni devono essere portati a temperatura ambiente (15–25 °C) prima di avviare la procedura.

Sostanze interferenti

I campioni di plasma con concentrazioni elevate di gamma-globulina (>30 g/l) potrebbero causare una riduzione del recupero di DNA libero circolante.

Simboli

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

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

Cronologia delle revisioni

Revisione	Descrizione
R1, giugno 2022	Versione 2, Revisione 1 <ul style="list-style-type: none">• Aggiornamento alla versione 2 per conformità a IVDR• Formulazione per la manipolazione dei campioni aggiornata in conformità alla norma ISO 20186-3:2019 (E) Molecular in vitro diagnostic examinations – Specifications for pre-examination processes for venous whole blood – Parte 3: Isolated circulating cell free DNA from plasma

Per informazioni aggiornate sulla licenza e per le clausole di esclusione della responsabilità specifiche 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 ai servizi tecnici QIAGEN o al proprio distributore locale.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Gruppo QIAGEN); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). 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.
06/2022 HB-3034-S01-001© 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.