 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	CP005
	HPV TYPING ALLEGATO 14 Sequenziamento DNA di HPV	Pag. 1 di 6 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

Gruppo di redazione: Francesca Carozzi, Cristina Sani, Simonetta Bisanzi

1. SCOPO

Esplicitare e rendere note, a tutti gli operatori del Laboratorio Regionale HPV e biologia molecolare di ISPO, coinvolti nella esecuzione della genotipizzazione HPV da campioni di cellule cervicali prelevate in STM, il protocollo per il sequenziamento del DNA di HPV.

2. CAMPO DI APPLICAZIONE

La presente istruzione si applica nell'ambito delle attività del personale del Laboratorio Regionale HPV e biologia molecolare del Presidio di Villa delle Rose di ISPO coinvolti nella genotipizzazione HPV afferenti ad ISPO.

3. DESCRIZIONE DELLE ATTIVITA'

Il responsabile delle seguenti azioni è il Biologo, strutturato e non, operante nella sezione e addetto agli esami di biologia molecolare.

Preparazione del campione

Il segmento di DNA amplificato con primer specifici (gli stessi utilizzati per la reazione di amplificazione):


Primer GP5+ 5'- TTT GTT ACT GTG GTA GAT ACT AC- 3'

Primer GP6+ 5'- GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT - 3'

(vedi istruzione operativa 7) dopo la corsa su gel di agarosio 2% in TAE viene purificato.

Protocollo di purificazione del prodotto PCR con QIAquick PCR Purification kit Qiagen

1. Aggiungere 5 volumi di Buffer PB ad un volume di amplificato in una provetta da 1.5 ml (Es. aggiungere 200 µl di Buffer PB a 40 µl di prodotto di PCR)
2. Preparare una colonnina QIAquick spin column per ogni campione da purificare, posizionata sul tubo di raccolta
3. Per legare il DNA, applicare il campione alla colonnina e centrifugare per 1 minuto a 13000rpm
4. Eliminare il filtrato e posizionare la colonnina sullo stesso tubo di raccolta
5. Per lavare la colonnina, aggiungere 750 µl di Buffer PE e centrifugare per 1 minuto a 13000rpm
6. Eliminare il filtrato e posizionare la colonnina sullo stesso tubo di raccolta. Centrifugare per 1 minuto a 13000rpm, per eliminare il residuo di Buffer PE
7. Posizionare la colonnina in una provetta da 1.5 ml
8. Per eluire il DNA, aggiungere al centro della membrana della colonna da 30 a 50 µl di acqua (quantità variabile in base all'intensità dell'amplificato), aspettare un minuto e centrifugare per 1 minuto a 13000rpm
9. Elettroforesi su gel di agarosio al 2% di 5 µl di purificato per stabilire la quantità necessaria per la reazione di marcatura (quantità variabile tra 1 e 6 µl).

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	CP005
	HPV TYPING ALLEGATO 14 Sequenziamento DNA di HPV	Pag. 2 di. 6 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

Preparare la mix per la reazione di marcatura:

Reagenti	Stock conc.	Conc lavoro	Volume /PCR
Volume DNA templat			1 – 6 µl
5X Sequencing Buffer	5X	5X	4 µl
Terminator Ready Reaction Mix ABI PRISM Big Dye terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit			2 µl
Primer GP5+/GP6+ Forward o Reverse	100 µM	3.2 µM	1. µl
Acqua RNase-free			q.b.
Tot mix di reazione			20 µl

- 1) Numerare i tubi di PCR da 0,2 secondo lo schema di lavoro e preparare la mix singolarmente per ciascun campione
- 2) Mettere i tubi di PCR nella macchina di PCR e far partire il saggio usando il seguente protocollo di amplificazione:

96°C per 10 sec
 50°C per 5 sec
 60°C per 1 min

25 cicli

4°C fino all'utilizzo della reazione di marcatura nella successiva fase di rimozione dei Big Dye terminator non incorporati (mediante precipitazione con etanolo e sodio acetato o mediante gel-filtrazione in colonnine in resina).

Questo tipo di reazione può essere eseguito nel termociclatore i-cycler (Biorad), my-cycler (Biorad), 9700 Applied Biosystems; 2720 Applied Biosystem: assicurarsi prima dell'uso che il thermal cycler sia calibrato (vedi istruzioni calibrazione allegate).


La reazione di marcatura deve essere conservata a 4°C per un tempo non superiore ad una settimana.

Precipitazione con etanolo e sodio acetato

Trasferire la reazione di marcatura in tubini da 0.5 ml sterili ed aggiungere:

3 µl di sodio acetato 2M
 50 µl di etanolo 95%

- ✓ Vortexare e lasciare incubare da un minimo di 15 min ad un massimo di 24 ore.
- ✓ Centrifugare a 13.000rpm per 20 min.
- ✓ Eliminare il sovrantante ed aggiungere 250 µl di etanolo 70%.
- ✓ Vortexare e centrifugare a 13.000rpm per 5 min.
- ✓ Eliminare il sovrantante.

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	CP005
	HPV TYPING ALLEGATO 14 Sequenziamento DNA di HPV	Pag. 3 di. 6 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

- ✓ Essiccare il pellet (invisibile) nella PCR a 90°C per 1 min con il tappo aperto.
- ✓ Aggiungere 25 µl del tampone di corsa TSR (APPLIED Biosystems) e vortexare.
- ✓ Denaturare il campione nella PCR a 95°C per 2 min (tappo chiuso).
- ✓ Mettere subito i campioni in ghiaccio.
- ✓ Centrifugare per pochi secondi a 5.000rpm.

Trasferire 11 µl del campione marcato e risospeso negli appositi tubini da 0.5 ml. Chiudere con tappi sterili di gomma con foro centrale (Applied Biosystems).

Gel-filtrazione in colonnine in resina

Purificazione della reazione di sequenza con DyeEx 2.0 Spin kit Qiagen


1. Agitare la colonnina per risospendere la resina.
2. Svitare il tappo della colonnina di circa un quarto di giro.
3. Staccare la chiusura inferiore della colonnina e posizionarla su un tubo di raccolta da 2ml.
4. Centrifugare per 3 minuti a 3000rpm.
5. Trasferire con attenzione la colonnina su una provetta da 1.5ml. Depositare lentamente i 20µl del prodotto della reazione di marcatura al centro della superficie della resina, senza toccare la resina. Non importa rimettere il tappo alla colonnina.
6. Disporre nella centrifuga le colonnine con la stessa inclinazione che avevano nella prima centrifugata (cioè con la punta della superficie della resina verso l'esterno).
7. Centrifugare per 3 minuti a 3000rpm.
8. L'eluato è il purificato da analizzare al sequenziatore.

Reagenti

Reagente	Conservazione	Produttore/codice
Buffer PB	Temperatura ambiente	Qiagen / 1015089
Buffer PE	Temperatura ambiente	Qiagen / 1015210
QIAquick spin column	Temperatura ambiente	Qiagen / 1018215
5X Sequencing Buffer	Frigo 4° C	Applied Biosystem / 4336397
Terminator Ready Reaction Mix ABI PRISM Big Dye terminator Cycle Sequencing Ready Reaction kit	Freezer -20C	Applied Biosystem / 4336768
Primers GP5+/GP6+	Freezer -20C	Eurofins
Agarosio	Temperatura ambiente	SIGMA / EC 232-731-8
TAE Buffer	Temperatura ambiente	AB Analitica
Sodio Acetato	Temperatura ambiente	SIGMA / EC 204-823-8
Etanolo	Temperatura ambiente	Carlo Erba 414605
DyeEx 2.0 Spin Column	Temperatura ambiente	Qiagen / 1020001

Preparazione del sequenziatore ABI PRISM 310

- ✓ Accendere prima il sequenziatore e poi il computer collegato.
- ✓ Aprire il programma ABI PRISM 310 Collection.

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	CP005
	HPV TYPING ALLEGATO 14 Sequenziamento DNA di HPV	Pag. 4 di 6 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015


- ✓ Aprire le due porte del sequenziatore.
- ✓ Per prima cosa si lavano attentamente tutti i componenti in plastica e gomma con acqua corrente calda aiutandosi con una siringa di plastica per lavare all'interno delle fessure e quindi abbondantemente con acqua distillata.
- ✓ La siringa va smontata e rimontata facendo attenzione all'anello di gomma nero da riposizionare all'estremità della siringa.
- ✓ Si asciuga tutto perfettamente.
- ✓ Si mettono a temperatura ambiente polimero e buffer con EDTA 10X.
- ✓ Si preparano 15 ml di buffer 1X: 1.5 ml di buffer 10X e 13.5 ml di acqua distillata.

Montaggio regione del blocco di plexiglas

- ✓ Si richiama dal programma ABI PRISM 310 Collection, Manual Control e si apre la valvola del buffer.
- ✓ Si inserisce il blocco di plexiglass nella guida e le valvole nelle tre fessure.
- ✓ Si chiude la valvola del buffer, si stringono le altre valvole eccetto quella del capillare.
- ✓ Si mette il buffer diluito nella giara che alloggia l'anodo buffer e si posiziona la giara sull'anodo.

Montaggio del capillare e dell'elettrodo

- ✓ Il capillare viene pulito con etanolo assoluto ed un fazzoletto di carta di marca nella zona della finestra di quarzo e solo in quella.
- ✓ Si monta il capillare.
- ✓ Si passa il capillare nella fessura della valvola apposita e solo a questo punto si stringe bene la valvola del capillare.
- ✓ Si passa quindi il capillare nel detector plate facendo attenzione a posizionare la camera di quarzo nella fessura da cui passa il laser (detector window).
- ✓ Si chiude il detector door.
- ✓ Il capillare va piegato a formare un'ansa sull'Heat Plate e fatto entrare nel supporto circolare terminale.
- ✓ L'elettrodo è alloggiato in questo supporto circolare e ogni due - tre mesi dovrebbe essere rimosso e pulito con un po' di acqua distillata.
- ✓ Si fa arrivare il capillare all'altezza dell'elettrodo o due tre mm più in basso dell'elettrodo e si ferma il capillare con due pezzi di scotch thermal tape.
- ✓ Si prende la siringa pulita e asciutta, si infila nella fessura apposita e si avvita bene. Si apre la sola valvola del buffer (da Manual control) mentre le altre valvole sono chiuse e si aspira con il pistone un po' di buffer che risale dalla giara dell'anodo, fino a passare di pochi mm la Luer valve.
- ✓ Si chiude la valvola del buffer.
- ✓ Si toglie la siringa e si riempie di polimero POP6 sotto cappa.
- ✓ Si rimette la siringa nel suo alloggio, si avvita e si apre la sola Luer valve.
- ✓ Si spinge con l'indice il polimero fino a raggiungere il fronte del buffer e si fa risalire il polimero frammisto a buffer fino alla valvola, che quindi viene chiusa.

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	CP005
	HPV TYPING ALLEGATO 14 Sequenziamento DNA di HPV	Pag. 5 di. 6 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

- ✓ Si posiziona il siringe Drive Toggie in direzione della siringa e da Manual control > Syringe down fino a raggiungere il pistone della siringa a contrasto.
- ✓ Aspettare che dal capillare fuoriesca una goccia di polimero.
- ✓ Nel frattempo aggiungere acqua distillata e buffer 1X in provette di vetro alloggiare nel contenitore posto al di sotto di capillare ed elettrodo.
- ✓ L'acqua distillata occupa il posto 2 mentre il buffer il posto 1. I due contenitori vengono tappati con tappini di plastica bianchi con foro centrale.
- ✓ Anche nel posto 3 viene messa una provetta eppendorf da 1.5 ml contenente acqua distillata.
- ✓ Fare partire da Manual control un Seq fill capillary in modo che il polimero contenuto nel capillare non vada mai a secco. Appena il capillare s'immerge nell'acqua terminare il Seq fill capillary.

Tutte le volte che viene cambiato un capillare o pulito l'elettrodo deve essere rifatta la procedura di allineamento del capillare seguendo le istruzioni del computer dal programma ABI PRISM 310 Collection > Instrument > Autosampler calibration.

Sequenziamento

Si imposta la corsa di sequenza sul computer attraverso il programma ABI PRISM 310 Collection:

New File

Sample sheet 48 posti

Si iscrivono i nomi dei campioni


Si salva la lista dei campioni (sample sheet)

New File

Injection list

Si richiama la lista dei campioni che sono stati preparati.

- ✓ Si impostano i tempi di corsa (da 10 a 36 minuti in base alla lunghezza del frammento da sequenziare) e i tempi di iniezione (da 10 a 60 sec in base alle aspettative della marcatura: più intensa risulta la marcatura = minore deve essere il tempo di iniezione del campione).
- ✓ Le prime due o tre corse devono essere Seq fill capillary nel caso sia un capillare nuovo, ma maggiore è il numero delle corse del capillare e maggiore deve essere il numero dei Seq fill capillary. E' inoltre sempre utile inserire un Seq fill capillary almeno ogni 6-7 campioni e in fondo alla corsa.
- ✓ La reazione di sequenza non deve partire se dopo i Seq fill capillary la prova CCD 4 colour dà valori maggiori di 2000-3000 nella linea di base corrispondenti ai 4 fluorocromi.
- ✓ Altri Seq fill devono essere aggiunti anche se durante la prova CCD 4 colour (che dura 5 min. e deve essere interamente seguita) si presentano dei picchi di intensità elevata.
- ✓ I campioni vengono conservati in frigo o in freezer, dove possono permanere non più di 3 giorni prima di essere esaminati. Al momento della corsa vengono denaturati e accuratamente tappati. Questa fase è critica perché, se la provetta non è accuratamente tappata, viene compromesso l'esito dell'esame. I campioni vengono così posizionati nel provettario posto al di sotto del capillare e del buffer.
- ✓ Si fa partire la corsa della sequenza.

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	CP005
	HPV TYPING ALLEGATO 14 Sequenziamento DNA di HPV	Pag. 6 di. 6 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

- ✓ Le corse vengono analizzate nel programma Sequencing analysis che il computer lancia automaticamente appena parte una corsa di sequenza.
- ✓ Le corse possono essere visualizzate da Sequencing analysis, Sample manager, oppure possono essere richiamate da ABI PRISM, Run, corsa della data che si vuole visualizzare.

Allegato 15: Innolipa Schede di sicurezza (MSDS INNO-LiPA)
Consultabili nella stanza 67 a del LRPO



Manufacturer / Supplier:

INNOGENETICS N.V.
Technologiepark 6
B-9052 Ghent - BELGIUM
Tel: +32-9-329.13.29
Fax: +32-9-329.19.11
<http://www.innogenetics.be>

BTW BE 0427.550.660
RPR Gent

10.05.2010

Kit components

Product code	Description
81063	INNO-LiPA HPV Genotyping Extra <20T,CE>

Components:

Article code	Article description	Datasheet version
56718	DENAT SOLN	4
57420	HYBRIDIZ SOLN	3
57421	STRIN WASH SOLN	3
56721	RINSE SOLN 5x	3
56951	CONJ DIL	3
56952	CONJ 100x	3
56953	SUBS BUF	3
56954	SUBS BCIP/NBT 100x	4

Le versioni precedenti di questa Scheda possono comunque essere fornite su richiesta.

TRAINING MANUAL

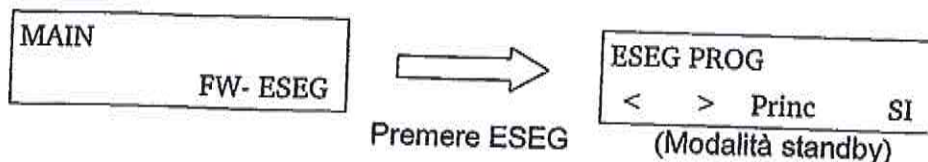
Auto-LiPA 48

Innogenetics Srl
Via del Mare 36
00040 Pomezia (Roma)
☎ 06 91180375
☎ 06 91180400

Questo manuale operativo è un'agevole guida per eseguire rapidamente un test INNO-LiPA sullo strumento automatico Auto-LiPA 48. Assicuratevi di aver letto il manuale operativo completo prima di iniziare ad utilizzare la prima volta Auto-LiPA 48.

Accensione

- Premere l'interruttore ON/OFF situato sul retro dello strumento..
- Attendere fino a che lo strumento si posiziona in modalità stand-by e sul display appare:



- L'Auto-LiPA 48 è pronto per iniziare l'esecuzione di un test

✓ Collocazione degli accessori

- Alloggiare i tubi di scarico normale (etichettato in nero) e quello di scarico speciale (non etichettato) nelle appropriate bottiglie sul lato sinistro dello strumento.
- Riempire le due bottiglie del sistema di riscaldamento con acqua distillata. Aggiungere acqua fino alla linea di demarcazione rossa nella bottiglia per acqua calda, fino alla linea blu nella bottiglia per acqua fredda. Infilare queste bottiglie negli appositi rivestimenti isolanti e posizionarle nello strumento, quindi inserire i tubi etichettati HW1, HW3, CW1 e CW3. Mettere i coperchi isolanti sopra ai rivestimenti delle bottiglie.

Attenzione:

- Rimuovere e pulire i filtri dei tubi di distribuzione HW1, HW3, CW1 e CW3 prima di ogni uso.
- Controllare il livello di liquido nelle bottiglie dell'acqua distillata calda e fredda ad ogni utilizzo.

✓ Selezione del test

- Premere il tasto "SI" quando il display è in modalità standby.
 - Appare il messaggio "Bott. SCARTI OK?". Controllare a premere "SI" per confermare.
 - Il successivo messaggio "Contr. FILTRI" vi ricorderà di controllare che i filtri non siano ostruiti.
 - Selezionare sul messaggio seguente la metodica che desiderate effettuare utilizzando i tasti + e -.
- .. Possono essere selezionati i seguenti test:

HLA56V3 per i test INNO-LiPA HLA

CFV4 per i test INNO-LiPA CFTR

HPVV1 per il test INNO-LiPA HPV ed i test INNO-LiPA HBV

RIFTBV3 per i test INNO-LiPA MYCOBACTERIA e INNO-LiPA RIFTB

APOEV3 per il test INNO-LiPA APOE

- controllare l'elenco dei test disponibili nel manuale ricevuto con lo strumento
- Premere "SI" per confermare la vostra selezione.
- Controllare e confermare la temperatura di ibridazione del test sul display premendo "SI". Lo strumento è pronto per iniziare il test.

✓ Preparazione dei reagenti

- Posizionare le bottiglie dei reagenti Hybridization Solution (HS) e Wash Solution (WS) del kit INNO-LiPA negli appositi contenitori metallici. Mettere i contenitori sull'incubatore (rispettivamente SW sul fondo e HS sul davanti), e inserire i tubi con i corrispondenti colori e numeri come indicato in tabella:

Reagenti INNO-LIPA	Tubo n°	Codice Colore Tubo
Hybridization Solution	1	Verde
Stringent Wash	2	Blu

Attenzione:

- Verificare che i tubi siano immersi nella soluzione e non siano piegati!
- Per N campioni occorrono i seguenti volumi:

Reagenti INNO-LIPA	Diluizione	Volume da preparare
Hybridization Solution	Pronto all'uso	(N x 2 ml) + 10 ml
Stringent Wash Solution	Pronto all'uso	(N x 2 ml) + 10 ml
Rinse Solution	1/5 in H ₂ O	(N x 12 ml) + 10 ml
Conjugate	1/100 in Conjugate Diluent	(N x 2 ml) + 10 ml
Substrate Buffer	Pronto all'uso	(N x 2 ml) + 10 ml
Substrate	1/100 in Substrate Buffer	(N x 2 ml) + 10 ml

Esempio per 5 campioni:

RS = 70 ml, diluizione 1/5 (14 ml di RS + 56 ml H₂O)
 C = 20 ml, diluizione 1/100 (200 µl di C + 20 ml CD)
 SB = 20 ml
 S = 20 ml, diluizione 1/100 (200 µl di S + 20 ml SB)

Attenzione:

- Per sedute con pochi campioni, il volume di 10 ml in eccesso per il coniugato (Conjugate), per il tampone substrato (Substrate Buffer) e per il substrato (Substrate) può essere ridotto se vengono usati recipienti conici tipo Falcon.

Esempio:

- utilizzando un contenitore conico da 50 ml: 5 ml in eccesso di reagente
- utilizzando un contenitore conico da 15 ml: 3 ml in eccesso di reagente
- Riempire i recipienti con i corretti reagenti e inserire i tubi con i colori e numeri corrispondenti. Posizionare i contenitori nello strumento in corrispondenza dei punti colorati.

I colori e i numeri corrispondenti sono:

Reagenti INNO-LIPA	Numero del tubo	Codice Colore del tubo
Rinse Solution	3	Arancione
Conjugate	4	Rosso
Substrate Buffer	5	Bianco
Substrate	6	Giallo

✓ Aggiunta dei campioni e avvio del test

- Attendere che lo strumento mostri l'avviso "INSERISCI VASSOIO" per preparare i campioni.
- Utilizzare delle pinzette di plastica per posizionare il numero occorrente di strisce LiPA (dopo averle siglate con una matita) nella parte inferiore della vaschetta del vassoio, con la marker line in direzione della parte superiore del vassoio.
- Pipettare 10 µl di Denaturation Solution (DS) nell'angolo superiore della vaschetta per ogni campione e miscelare più volte con 10 µl di prodotto di PCR.
- Caricare il vassoio nell'Auto-LiPA 48 e chiudere il copri vassoio per mezzo dei tre morsetti neri e delle due chiusure a farfalla
- Chiudere il coperchio frontale dello strumento e premere un tasto qualsiasi

Attenzione:

- Assicurarsi che il vassoio sia alloggiato correttamente nello strumento.
- Definire i seguenti parametri prima di cominciare:
 1. PosIniz. Striscia 1: indica la posizione sul vassoio in cui è stata alloggiata la prima striscia. Le possibili posizioni di partenza sono: 1, 4, 7...
 2. Nr di Strisce 30: indicare, muovendosi con le frecce, il numero di strisce che devono essere testate (1 - 30)
 3. Ultima Aspirazione?: indicare se lo strumento deve eseguire automaticamente l'aspirazione della rinse al termine dell'ultimo passaggio

Attenzione:

- Quando si effettua un test overnight, è preferibile rimandare l'ultima aspirazione e lasciare le strisce immerse nella Rinse Solution.
- Se il coperchio dello strumento non è chiuso, non è possibile procedere!
- Proc 1: INC: Confermare premendo "SI" che il primo passaggio del test è un'incubazione.

✓ Pulizia dell'Auto-LiPA 48

- L'Auto-LiPA 48 deve essere pulito con acqua distillata dopo ogni utilizzo e una volta alla settimana utilizzando una soluzione di lavaggio.
Può essere utilizzata la seguente soluzione: 2% SDS + 0.1%TWEEN-20 riscaldato a 60°C o etanolo al 70%.
- Partendo da "ESEGUI PROG." in modalità standby, selezionare il menu "Prepar. Liquido" utilizzando i tasti "<" o ">". Confermare con "SI".
- Procedere fino al messaggio "Pulizia Autom.", sempre utilizzando "<" o ">", e confermare.
- Quando appare "PUL LIQUIDO", mettere tutti i tubi dei reagenti in acqua distillata o nella soluzione di lavaggio e premere "SI" per confermare.
- Mettere o lasciare i tubi in acqua distillata quando appare il messaggio "ACQUA DISTILL", e confermare.
- Il messaggio successivo è "Pulitura Vasca". Quando completato, confermare di continuare premendo un tasto qualsiasi.
- Al messaggio "RIMUOVI ACQUA", i tubi devono essere rimossi dall'acqua distillata. Quando si conferma il messaggio, i tubi verranno svuotati.

Attenzione:

- dopo l'uso settimanale della soluzione di lavaggio, utilizzare il programma Pulizia Autom. due volte per rimuovere ogni traccia della soluzione di lavaggio.

✓ Procedure standard di manutenzione

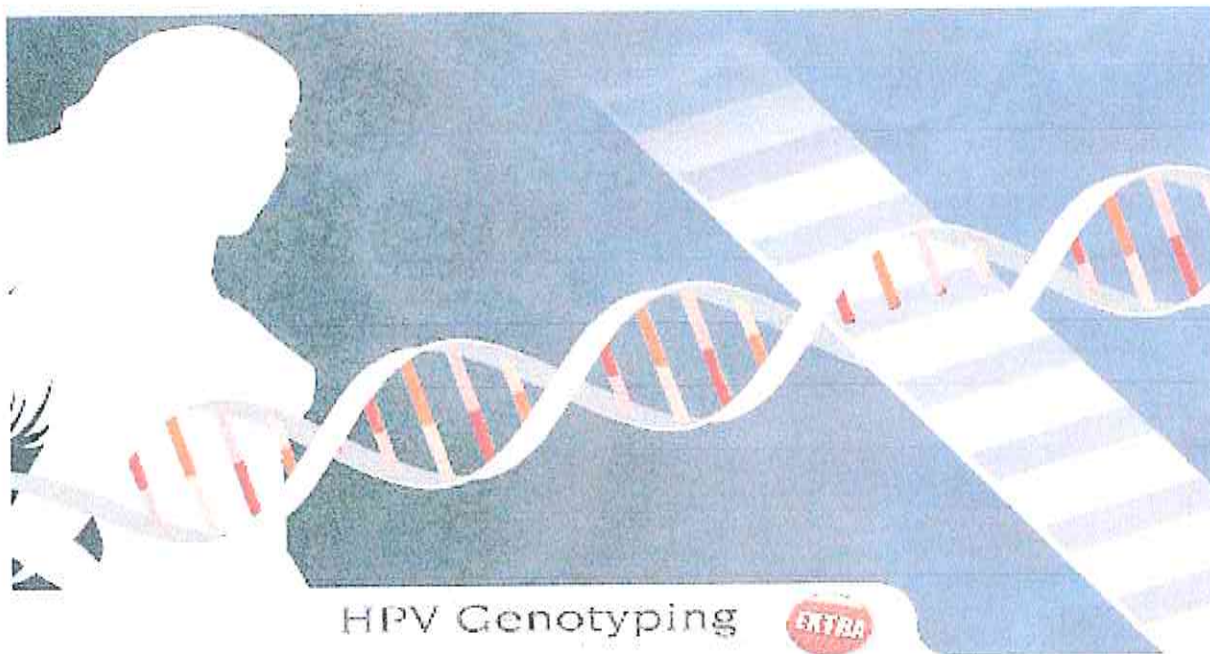
PROCEDURE GIORNALIERE:

- Cambiare i liquidi nelle bottiglie isolanti di acqua calda e fredda prima dell'utilizzo del giorno. Riempire solo con acqua distillata. Ricontrollare il livello di liquido delle bottiglie di acqua calda e fredda prima di ogni utilizzo e se necessario portare a volume con acqua distillata.
- Controllare se i filtri metallici dei tubi inseriti nelle bottiglie dell'acqua calda e fredda sono ostruiti da sporcizia o polvere. Questo controllo dovrebbe essere fatto prima dell'esecuzione di ogni test.
- Assicurarsi che il fondo del vassoio sia libero da polvere o residui prima di essere inserito nel suo alloggio (porre il vassoio su di una superficie pulita e priva di polvere quando si caricano le strisce).
- Se lo strumento resta inutilizzato, inserire un vassoio e chiudere il coperchio per impedire che entri polvere nell'alloggio del vassoio.
- Impostare il programma "Pulizia Autom." per lavare tutto il sistema dopo ogni utilizzo.

PROCEDURE SETTIMANALI:

- Lavare il display, il coperchio e il compartimento per le bottiglie con un detergente. **NON USARE ACETONE!**
- Usare la seguente soluzione di lavaggio (70% etanolo o 2% SDS + 0.1% Tween, quest'ultimo scaldato a 60°C) una volta alla settimana, per pulire tutto il sistema mediante il programma "Pulizia Autom.". Successivamente effettuare due cicli del programma "Pulizia Autom." con acqua distillata, per rimuovere ogni traccia della soluzione di lavaggio.

LiRAS™ for LiPA HPV



Manual



BI00234 Rev0

 AB ANALITICA® s.r.l. ADVANCED BIOMEDICINE www.abanalitica.it	DIAGNOSTICI IN VITRO SCHEDA DI SICUREZZA AQ-HPV-TYPE_EXPRESS_msd_120140515
---	--

Pagina 1 di 2

SCHEDA DI SICUREZZA

Stampata il 15/05/2014

Revisione N° 5 del 15.05.2014

Il prodotto **AMPLIQUALITY HPV-TYPE EXPRESS** non è soggetto alla redazione della SCHEDA DATI DI SICUREZZA in quanto regolamentato dalla direttiva 98/79/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 27 ottobre 1998, relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro in accordo al comma 11 del REGOLAMENTO (CE) N. 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga le direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE e che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006

1 - Identificazione del dispositivo medico-diagnostico in vitro e della società

Nome del prodotto: **AMPLIQUALITY HPV-TYPE EXPRESS**
 Codice del prodotto: **03-35A-20**

Società: **AB ANALITICA s.r.l.**
Via Svizzera 16,
Tel 049/761698 Fax 049/8709510
35127 Padova
ITALIA


2-Identificazione del pericoli




L'unico componente pericoloso è la soluzione DEN Soluzione di denaturazione pronta all'uso
 Contiene NaOH < 2% di cui si allega la relativa SDS

3- Composizione/ingredienti

Nome del prodotto: **AMPLIQUALITY HPV-TYPE EXPRESS**
 CAS: nessuno
 EINECS: nessuno

Componenti:

DESCRIZIONE	ETICHETTA
Mastermix contenente reagenti di amplificazione	HPV-TYPE EXPRESS MIX
DNA plasmidico contenente parte del genoma di HPV 61	PC HPV 61
Strisce di nitrocellulosa con sonde specifiche adese	STRIP HPV
Soluzione di denaturazione pronta all'uso Contiene NaOH < 2%	DEN Xi:irritante  R 36/37/38 S26
Soluzione di Ibridazione pronta all'uso	HYB-1
Soluzione di Diluizione del Coniugato	CON-D1
Streptavidina coniugata con fosfatasi alcalina	CON
Soluzione di Risciacquo pronta all'uso	RIN
Substrato: soluzione NBT/BCIP pronta all'uso	NBT/BCIP

PREPARIATO DA: 	VERIFICATO DA: 	APPROVATO DA: 		
---	---	--	--	--

Soluzione di Bloccaggio **pronta all'uso**
Contiene Acido citrico < 0,5%

STOP

Altre informazioni

GARANZIA Le informazioni di cui sopra sono ritenute corrette, tuttavia non possono essere esaurienti e dovranno pertanto essere considerate puramente indicative. La società AB ANALITICA non potrà essere ritenuta responsabile per qualsiasi danno derivante dall'impiego o al contatto con il prodotto di cui sopra.

PREPARATO DA:
RAQ

VERIFICATO DA:
SAQ

APPROVATO DA:
DIR

1. Identificazione della sostanza/miscela e della società/dell'impresa

Informazioni sul prodotto

Numero di catalogo:

03-35A-20

Nome del prodotto:

AMPLIQUALITY HPV-TYPE EXPRESS
DEN [BOX R]

Utilizzazione della sostanza/miscela:

Kit per genotipizzazione di acidi nucleici

Società:

AB ANALITICA, via Svizzera 16 – 35127 PADOVA
Tel +39 049 761698 - Fax +39 049 8709510

Numero telefonico di emergenza:

Tel. 02 66101029
Centro Antiveneni Ospedale Niguarda
Servizio attivo 24 ore su 24.
<http://www.centroantiveneni.org/>

Persona responsabile/redattore:

qualita@abanalitica.it

2. Identificazione dei pericoli

Classificazione della sostanza o della miscela

Classificazione GHS

Irritazione oculare, Categoria 2

H319: Provoca grave irritazione oculare.

Irritazione cutanea, Categoria 2

H315: Provoca irritazione cutanea.

Classificazione CE

XI; R36/38

Per il testo completo delle frasi R menzionate in questa sezione, vedi sezione 16.

Elementi dell'etichetta

Etichettatura GHS

Pittogrammi di pericolo



Avvertenza

Attenzione

Indicazioni di pericolo

H315: Provoca irritazione cutanea.

H319: Provoca grave irritazione oculare.

Consigli di prudenza

P302 + P352: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.

P305 + P351 + P338: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.

Etichettatura ridotta (≤ 125 mL)
Pittogrammi di pericolo



Avvertenza
Attenzione

Etichettatura secondo Direttive CE



Simbolo: Xi Irritante
Frasi "R": 36/38 Irritante per gli occhi e la pelle.
Frasi "S": 26 In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare un medico.

Etichettatura ridotta (≤ 125 mL)



Simbolo: Xi Irritante

Altri pericoli
Nessuno(a).

3. Composizione/informazione sugli ingredienti

Natura chimica
Soluzione acquosa.

Componenti pericolosi

Sodio idrossido				
N° CAS	N° CE	N° INDICE	Classificazione	concentrazione
1310-73-2	215-185-5	011-002-00-6	Corrosione cutanea Categoria 1A, H314	≥ 0.1 % - < 2.0 %
			C, R35	

Per il testo completo dei codici H e delle frasi R menzionate in questa sezione, vedi sezione 16.

4. Misure di primo soccorso

Dopo inalazione: aria fresca.

Dopo contatto con la pelle: lavare abbondantemente con molta acqua. Togliere gli indumenti contaminati. Consultare un medico.

Dopo contatto con gli occhi: sciacquare abbondantemente con acqua tenendo la palpebra aperta. Chiamare immediatamente un oculista.
Dopo ingestione: NON indurre il vomito. Non somministrare alcunché a persone svenute. Sciacquare la bocca con acqua. Consultare un medico.

5. Misure antincendio

Mezzi di estinzione idonei

Utilizzare sistemi estinguenti compatibili con la situazione locale e con l'ambiente circostante.

Pericoli specifici contro l'incendio

Non combustibile.

In caso di incendio può liberare vapori pericolosi.

Equipaggiamento speciale di protezione per gli addetti all'estinzione degli incendi

Non sostare nella zona di pericolo senza autonomo respiratore. Allo scopo di evitare contatti con la pelle, tenere un'adeguata distanza di sicurezza ed usare adatti indumenti di protezione.

Ulteriori informazioni

Eliminare gas/vapori/nebbie con getti d'acqua. Evitare che l'acqua degli estintori contamini le acque di superficie o le acque di falda.

6. Misure in caso di rilascio accidentale

Precauzioni individuali

Non respirare vapori, aerosol. Evitare il contatto con la sostanza. Prevedere una ventilazione adeguata.

Precauzioni ambientali

Non gettare i residui nelle fognature.

Procedure e materiali per il contenimento e la raccolta a scopo di pulizia

Raccogliere con materiale liquido assorbente e neutralizzante. Smaltire. Pulire l'area interessata.

7. Manipolazione e immagazzinamento

Manipolazione

Avvertenze per un impiego sicuro

Osservare le indicazioni sull'etichetta.

Immagazzinamento

Informazioni supplementari per le condizioni di stoccaggio

Ben chiuso.

Conservare da 2°C a 8°C.

Questi dati si applicano all'intero KIT!

8. Controllo dell'esposizione / protezione individuale

Componenti con limiti di esposizione

Componenti

Base	Valore	Parametri di controllo	Valore limite assoluto, Osservazioni
------	--------	------------------------	--------------------------------------

Sodio idrossido (1310-73-2)

OEL (IT)	Valore massimo	2 mg/m ³	
----------	----------------	---------------------	--

Protezione individuale

Proteggere il corpo con mezzi appropriati al tipo ed alla concentrazione del rischio esistente sul posto di lavoro. Chiarire con il fornitore la resistenza ai prodotti chimici dei mezzi di protezione.

Protezione respiratoria

Richiesta quando siano generati vapori/aerosol.

Tipo di filtro suggerito: Filtro B-(P2)

Protezione delle mani

Materiale dei guanti:

I guanti protettivi da usare devono rispettare le specifiche della direttiva EC 89/686/EEC e lo standard EN 374.

La scelta dei guanti adatti non dipende soltanto dal materiale bensì anche da altre caratteristiche di qualità variabili da un produttore a un altro. Poiché il prodotto rappresenta una formulazione di più sostanze, la stabilità dei materiali dei guanti non è calcolabile in anticipo e deve essere testata prima dell'impiego.

Tempo di permeazione del materiale dei guanti:

Richiedere al fornitore dei guanti il tempo di passaggio preciso che dovrà essere rispettato.

Protezione degli occhi

Occhiali di sicurezza.

Misure di igiene

Togliere immediatamente gli indumenti contaminati. Applicare una crema protettiva per la pelle.
Lavare le mani ed il viso dopo aver lavorato con la sostanza.

9. Proprietà fisiche e chimiche

Stato fisico	liquido
Colore	incolore
Odore	inodore
Valore di pH (20°C)	nessun dato disponibile
Viscosità, dinamica	nessun dato disponibile
Punto di ebollizione	nessun dato disponibile
Temperatura di accensione	nessun dato disponibile
Punto di infiammabilità	nessun dato disponibile
Proprietà comburenti	nessun dato disponibile
Infiammabilità	nessun dato disponibile
Limite di esplosività, inferiore	nessun dato disponibile
Limite di esplosività, superiore	nessun dato disponibile
Pressione di vapore	nessun dato disponibile
Densità di vapore relativa	nessun dato disponibile
Densità a 20 °C	1.016 g/cm³
Solubilità	nessun dato disponibile
Idrosolubilità a 20 °C	solubile
Coefficiente di ripartizione n-ottanolo/acqua	nessun dato disponibile
Velocità di evaporazione	nessun dato disponibile

10. Stabilità e reattività

Stabilità chimica

Stabile nelle condizioni di stoccaggio raccomandate.

Condizioni da evitare

Nessun dato disponibile.

Materiali da evitare

Agenti ossidanti forti, Acidi forti, Materie organiche.

Prodotti di decomposizione pericolosi

Nessuna informazione disponibile.

11. Informazioni tossicologiche

Valori LD/LC50 rilevanti per la classificazione:		
1310-73-2 Idrossido di Sodio (sostanza pura)		
Orale	LD50	500 mg/kg (coniglio)
		2000 mg/kg (ratto)
Effetto irritante per gli occhi	Draize test	++ (coniglio)

Inalazione

Sintomi: irritazione delle mucose, tosse, mancanza di respiro.

Ingestione

Sintomi: se ingerito, provoca irritazioni delle mucose della bocca, della faringe, dell'esofago e della zona gastrointestinale.

Pelle

Provoca irritazione cutanea.

Occhi

Provoca irritazione oculare.

Ulteriori informazioni

Manipolare rispettando le buone pratiche di igiene industriale e di sicurezza adeguate.

12. Informazioni ecologiche

Tossicità per i pesci

1310-73-2 Idrossido di Sodio (soluzione 50%) (IUCLID)

Valori CL50

Specie: *Oncorhynchus mykiss* (Trota iridea)

Dosi: 45,4 mg/l

Tempo di esposizione: 96 h

nessun dato disponibile

Persistenza e degradabilità

Nessun dato disponibile

Potenziale di bioaccumulo

Nessun dato disponibile

Mobilità nel suolo

Nessun dato disponibile

Valutazione PBT e vPvB

Nessun dato disponibile

Altri effetti nocivi

Effetto dannoso dovuto alla variazione del pH.

Non permettere il contatto con fonti d'acqua potabile, acque di scarico o suolo!

13. Considerazione sullo smaltimento

Prodotto

I prodotti chimici devono essere eliminati in conformità alle leggi vigenti.

Contenitori contaminati

Smaltimento secondo le normative nazionali. Gli imballi contaminati devono essere maneggiati con le stesse cautele usate per le sostanze pericolose. Gli imballi non contaminati possono essere trattati o riciclati come rifiuti non pericolosi se non diversamente indicato.

14. Informazioni sul trasporto

ADR/RID

Numero ONU: 1824 Classe: 8 Gruppo d'imballaggio: III

Nome di spedizione appropriato: IDROSSIDO DI SODIO IN SOLUZIONE

IMDG

UN-Number: 1824 Class 8 Packing group: III EMS-No: F-A, S-B
Proper shipping name: SODIUM HYDROXIDE SOLUTION
Marine pollutant: No

IATA

UN-Number: 1824 Class: 8 Packing group: III
Proper shipping name: SODIUM HYDROXIDE SOLUTION

Questi dati si applicano all'intero KIT!

15. Informazioni sulla regolamentazione

Questa scheda di sicurezza rispetta le prescrizioni del Regolamento (CE) N° 1907/2006.

16. Altre informazioni

Testo dell/i codice/i H e frase/i R menzionate nelle Sezioni 2 e 3

H314 Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.
R35 Provoca gravi ustioni.
R36/38 Irritante per gli occhi e la pelle.
Xi Irritante.
C Corrosivo.

Informazioni sulla revisione

Data e numero della revisione: 21/06/2010
Revisione precedente: prima stesura (rev. 0)
Motivo della revisione: non applicabile

Fonti

Dir. 67/548/CEE e successive modifiche ed adeguamenti.
Dir. 1999/45/CE e successive modifiche.
Regolamento (CE) N° 1907/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio del 18 dicembre 2006, REACH.
Regolamento (CE) N° 1272/2008, del Parlamento europeo e del Consiglio del 16 dicembre 2008, CLP, e successive modifiche.
Globally Harmonized System, GHS.
D.Lgs. 81/2008 e successive modifiche.

Legislazioni sulle Schede di Sicurezza

Scheda di Sicurezza in accordo con l'Allegato I del Regolamento (UE) N. 453/2010.

Ulteriori informazioni

Le informazioni qui contenute sono basate sull'attuale stato di conoscenza. Esse caratterizzano il prodotto con riferimento alle appropriate precauzioni di sicurezza. Non rappresentano una garanzia sulle proprietà del prodotto.

Manuale d'uso

AMPLIQUALITY HPV-TYPE EXPRESS

v.3.0
cod. 03-35A

Sistema rapido di identificazione
e tipizzazione del Papilloma Virus Umano
mediante PCR *single step* e
Reverse Line Blot





MANUALE D'USO

AB DIALUX

AMPLIQUALITY HPV-TYPE EXPRESS v. 2.0
AMPLIQUALITY HPV-TYPE
cod. 08-RLB-02

**Sistema per l'acquisizione e l'interpretazione
automatica di strip**

Versione software 1.1.0
23/05/2013





GUIDA GENERALE PER IL SOFTWARE

AB DIALUX

**Sistema per l'acquisizione e l'interpretazione
automatica di strip**

Versione software 1.4.0
30/03/2015

Allegato 22: QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook For DNA purification from Whole blood, plasma, serum, buffy coat, lymphocytes, dried blood spots, body fluids, cultured cells, swabs, and tissue.
Consultabile nella stanza 67 a del LRPO

Third Edition

June 2012

QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Handbook

For DNA purification from whole blood, plasma, serum, buffy coat, lymphocytes, dried blood spots (QIAamp DNA Mini Kit only), body fluids, cultured cells, swabs, and tissue (QIAamp DNA Mini Kit only)



Sample & Assay Technologies

Allegato 23: QIAamp® DNA FFPE Tissue Handbook For purification of genomic DNA from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues.
Consultabile nella stanza 67 a del LRPO

June 2012

QIAamp® DNA FFPE Tissue Handbook

For purification of genomic DNA from
formalin-fixed, paraffin-embedded tissues



Sample & Assay Technologies

ALLEGATO 24 CP005

COGNOME NOME
VIA/PIAZZA AAAAAAAAAA 1
50100 FIRENZE

RICERCA E TIPIZZAZIONE PAPILLOMAVIRUS UMANO (HPV)

E' stata evidenziata la presenza di:

HPV 16

Il Biologo

Il sistema utilizzato permette l'identificazione dei seguenti tipi di HPV:

16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 26, 53, 66, 68, 70, 73, 82, 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81

Data	giorno/mese/anno
N. registro	xxx
Tipo materiale	CERVICO VAGINALE

COGNOME E NOME
INDIRIZZO
CITTA'

RICERCA E TIPIZZAZIONE PAPILLOMAVIRUS UMANO (HPV)

Non è stata evidenziata la presenza di Papilloma Virus

Il Biologo

Il sistema utilizzato permette l'identificazione dei seguenti tipi di HPV:

16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 26, 53, 66, 68, 70, 73, 82, 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81

Data	giorno/mese/anno
N. registro	xxx
Tipo materiale	CERVICO VAGINALE

cognome e nome

indirizzo

indirizzo

RICERCA E TIPIZZAZIONE PAPILLOMAVIRUS (HPV)

L'esame ha dato il seguente esito:

<u>[x] Ricerca HPV</u>	<u>POSITIVO</u>
<u>[x] HPV alto rischio: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59</u>	<u>NEGATIVO</u>
<u>[x] HPV rischio intermedio: 26, 53, 66, 68, 70, 73, 82</u>	<u>NEGATIVO</u>
<u>[x] HPV basso rischio: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81</u>	<u>NEGATIVO</u>

TIPO SPECIFICO NON ULTERIORMENTE TIPIZZABILE

Il Biologo

Data giorno/mese/anno
N. registro xxx
Tipo materiale cervico vaginale

cognome e nome

indirizzo

indirizzo

RICERCA E TIPIZZAZIONE PAPILLOMAVIRUS (HPV)

Tipi testati: HPV alto rischio: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59

HPV rischio intermedio: 26, 53, 66, 68, 70, 73, 82

HPV basso rischio: 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 72, 81

NON VALUTABILE

Il Biologo

Data	giorno/mese/anno
N. registro	xxx
Tipo materiale	cervico vaginale

SCHEDA PROCESSO DI TIPIZZAZIONE

N° REGISTRO	CODICE PAZIENTE	TIPO CAMPIONE	ESTRAZIONE		PCR		TYPING		NOTE *	RIP. * ***	sigla biologo
			DATA	OPERATORE	DATA	OPERATORE	DATA	OPERATORE			
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											
19											
20											

* se richiesta PCR β - globina o altro segnalare anche su registro attività

** se richiesta ripetizione

*** refertato

ALLEGATO 26 CP005

ID_SAMPLE		RISULTATO HC2 TEST Pos neg HR HC2 HR HC2 RLU/CO LR HC2 LR HC2 RLU/CO..... Se HC2 neg SI NO 10% neg random	
Data prelievo:			
STOCCAGGIO			
DATA		OPERATORE	
N.SCATOLA		POSIZ.SCATOLA	
ESTRAZIONE			
DATA:		OPERATORE:	
N.LOTTO		EXP DATE	
N.SCATOLA		POSIZ.SCATOLA	
AMPLIFICAZIONE			
DATA:		OPERATORE:	
N.LOTTO		EXP DATE	
MACCHINA PCR UTILIZZATA			
INNOLIPA		ALTRO:	
TIPIZZAZIONE			
DATA:		OPERATORE	
N.LOTTO		EXP DATE	
INNOLIPA		ALTRO:	
TIPI: _____ NOTE: _____			
PRIMERS SINGOLI			
		DATA	OPERATORE
	NEG POS		
HPV:	_____	_____	_____
HPV:	_____	_____	_____
HPV:	_____	_____	_____
HPV:	_____	_____	_____
HPV:	_____	_____	_____
GH20/PC04:	_____	_____	_____
GP5+/6+	_____	_____	_____
betaglobina+	_____	_____	_____
RIPETIZIONI			
DATA		OPERATORE	
Campione	intero diluito		
PCR + Typing	Risultato:		
DATA		OPERATORE	
Campione	intero diluito		
PCR + Typing	Risultato:		

RISULTATO FINALE:

NOTE: _____

ID_SAMPLE		RISULTATO HC2 TEST Pos neg HR HC2 HR HC2 RLU/CO LR HC2 LR HC2 RLU/CO..... Se HC2 neg SI NO 10% neg random	
Data prelievo:			
STOCCAGGIO			
DATA		OPERATORE	
N.SCATOLA		POSIZ.SCATOLA	
ESTRAZIONE			
DATA:		OPERATORE:	
N.LOTTO		EXP DATE	
N.SCATOLA		POSIZ.SCATOLA	
AMPLIFICAZIONE			
DATA:		OPERATORE:	
N.LOTTO		EXP DATE	
MACCHINA PCR UTILIZZATA			
INNOLIPA		ALTRO:	
TIPIZZAZIONE			
DATA:		OPERATORE	
N.LOTTO		EXP DATE	
INNOLIPA		ALTRO:	
TIPI: _____ NOTE: _____			
PRIMERS SINGOLI			
		DATA	OPERATORE
	NEG POS		
HPV:	_____	_____	_____
HPV:	_____	_____	_____
HPV:	_____	_____	_____
HPV:	_____	_____	_____
HPV:	_____	_____	_____
GH20/PC04:	_____	_____	_____
GP5+/6+	_____	_____	_____
betaglobina+	_____	_____	_____
RIPETIZIONI			
DATA		OPERATORE	
Campione	intero diluito		
PCR + Typing	Risultato:		
DATA		OPERATORE	
Campione	intero diluito		
PCR + Typing	Risultato:		

RISULTATO FINALE:

NOTE: _____

ID_SAMPLE		RISULTATO HC2 TEST Pos neg HR HC2 HR HC2 RLU/CO LR HC2 LR HC2 RLU/CO..... Se HC2 neg SI NO 10% neg random	
Data prelievo:			
STOCCAGGIO			
DATA	OPERATORE		
N.SCATOLA	POSIZ.SCATOLA		
ESTRAZIONE			
DATA:	OPERATORE:		
N.LOTTO	EXP DATE		
N.SCATOLA	POSIZ.SCATOLA		
AMPLIFICAZIONE			
DATA:	OPERATORE:		
N.LOTTO	EXP DATE		
MACCHINA PCR UTILIZZATA			
INNOLIPA	ALTRO:		
TIPIZZAZIONE			
DATA:	OPERATORE		
N.LOTTO	EXP DATE		
INNOLIPA	ALTRO:		
TIPI: _____			
NOTE: _____			
PRIMERS SINGOLI			
	NEG	POS	DATA OPERATORE
HPV: _____			
HPV: _____			
HPV: _____			
HPV: _____			
HPV: _____			
GH20/PC04: _____			
GP5+/6+ _____			
betaglobina+ _____			
RIPETIZIONI			
DATA _____		OPERATORE _____	
Campione	intero	diluito	
PCR + Typing	Risultato:		
DATA _____		OPERATORE _____	
Campione	intero	diluito	
PCR + Typing	Risultato:		

RISULTATO FINALE:

NOTE: _____

ID_SAMPLE		RISULTATO HC2 TEST Pos neg HR HC2 HR HC2 RLU/CO LR HC2 LR HC2 RLU/CO..... Se HC2 neg SI NO 10% neg random	
Data prelievo:			
STOCCAGGIO			
DATA	OPERATORE		
N.SCATOLA	POSIZ.SCATOLA		
ESTRAZIONE			
DATA:	OPERATORE:		
N.LOTTO	EXP DATE		
N.SCATOLA	POSIZ.SCATOLA		
AMPLIFICAZIONE			
DATA:	OPERATORE:		
N.LOTTO	EXP DATE		
MACCHINA PCR UTILIZZATA			
INNOLIPA	ALTRO:		
TIPIZZAZIONE			
DATA:	OPERATORE		
N.LOTTO	EXP DATE		
INNOLIPA	ALTRO:		
TIPI: _____			
NOTE: _____			
PRIMERS SINGOLI			
	NEG	POS	DATA OPERATORE
HPV: _____			
HPV: _____			
HPV: _____			
HPV: _____			
HPV: _____			
GH20/PC04: _____			
GP5+/6+ _____			
betaglobina+ _____			
RIPETIZIONI			
DATA _____		OPERATORE _____	
Campione	intero	diluito	
PCR + Typing	Risultato:		
DATA _____		OPERATORE _____	
Campione	intero	diluito	
PCR + Typing	Risultato:		

RISULTATO FINALE:

NOTE: _____

REPORT Tracciabilità Seduta ANALITICA HPV TYPING Routine

Da N° reg _____ a N° reg _____

PCR (Allegato 6 CP005)

Data 1 _____ n. campioni _____ operatore (nome) _____

Data 2 _____ n. campioni _____ operatore (nome) _____

RLB (Allegato 6 CP005)

Data _____ n. campioni _____

Controlli interni (Allegato 6 della CP005)

	Risultato atteso	anomalia	
K+ PCR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ (specificare)
CE estrazione	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ (specificare)
Bianco PCR	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____ (specificare)

Scansione strip (allegato 6 della CP005)

☐ Non effettuata _____ (motivazioni)

Effettuata in Data _____ Seduta N° _____ (n° foglio di lavoro dialux) n. campioni _____


Operatore (nome e sigla) _____

Validazione risultati seduta (Allegato 8 della CP005)

Data _____ Biologo Dirigente (nome e sigla) _____

Esito complessivo _____
(i dettagli di ciascun campione devono essere riportati su registro e foglio di lavoro autoblot)

NOTE _____

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	Codice Aziendale CP005
	HPV typing Allegato 29 Estrazione automatica DNA da campioni biologici con QIA Symphony DSP	Pag. 1 di 9 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

Gruppo di redazione: Francesca Carozzi, Cristina Sani, Simonetta Bisanzi

1. SCOPO

Definire le modalità di estrazione automatica del DNA da vari tipi di campioni biologici per la ricerca e tipizzazione del Papillomavirus umano (HPV) con QIA Symphony DSP (qiagen).

2. CAMPO DI APPLICAZIONE

La presente istruzione operativa deve essere applicata dal personale afferente alla S.S. Laboratorio Regionale HPV e biologia molecolare, impegnato nella procedura di Ricerca e tipizzazione del Papilloma virus umano (HPV) con amplificazione genica.

3. DESCRIZIONE DELLE ATTIVITA'

L'estrazione automatica del DNA viene eseguita con QIA Symphony DSP Virus/pathogen Midi kit (Qiagen, catalog. no. 937055) (il manuale d'uso Allegato 30), seguendo i protocolli specifici per ciascuna tipologia di campione/prelievo.

I campioni devono essere opportunamente conservati e/o pretrattati prima dell'estrazione del DNA secondo le indicazioni riportate nell'istruzione operativa "Fase Pre-analitica: conservazione e pretrattamento campioni biologici per Genotipizzazione HPV", Allegato 2 della Procedura HPV typing.

Possono essere estratti fino a 24 campioni per seduta, poichè il rack di eluizione è da 24 posti.

3.1 Preparazione dei campioni

I kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen sono studiati per essere utilizzati con un'ampia gamma di campioni, fra cui plasma, siero, FCS, nonché campioni respiratori e urogenitali. Evitare la formazione di schiuma all'interno o sui campioni.

In base al materiale iniziale utilizzato, può essere necessario pre-trattare i campioni per fluidificarlo.

I campioni devono essere termostatati a temperatura ambiente (15–25°C) prima di avviare la procedura. La preparazione del campione viene eseguita sotto la cappa a flusso laminare (stanza 49).

Il personale impegnato nella procedura deve verificare sull'apposito calendario la manutenzione della cappa.

Devono essere eseguite le fasi previste dalla check list prevenzione contaminazione (all.28), che deve essere debitamente compilata.

Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le appropriate schede di sicurezza (SDS) disponibile in laboratorio.

Controlli di qualità interni da inserire nella seduta di estrazione

Ad ogni singola seduta di estrazione viene inserito un controllo estrazione: campione di cellule cervicali HPV negativo (in thin prep o in STM, nel caso nella seduta non siano presenti campioni in TP). Questo

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	Codice Aziendale CP005
	HPV typing Allegato 29 Estrazione automatica DNA da campioni biologici con QIA Symphony DSP	Pag. 2 di 9 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

controllo serve sia per la verifica dell' idoneità della procedura di estrazione sia come controllo negativo da HPV.

Preparazione controllo estrazione.

Si prepara un pool di campioni negativi (campioni screening in TP o in STM), si testa per 3 volte in estrazione e tipizzazione a conferma della negatività, e se confermato HPV negativo si aliquota nella quantità necessaria ad una estrazione, e si conserva idoneamente (TP a temperatura ambiente, STM a -20°C) per l'utilizzo per un lungo periodo.

I controlli devono seguire lo stesso iter dei campioni.

3.1.1 Estrazione del DNA da campioni cervicali in STM

Aliquotare 200 ul di campione nella provetta apposita da 2ml*, aggiungere 400 ul di buffer ATL e agitare per spipettamento.

3.1.2 Estrazione materiale cervico-vaginale prelevato in THIN PREP o saccomanno

Aliquotare 600 ul di campione nella provetta apposita da 2ml*.

3.1.3 Estrazione da URINA

Aggiungere 500ul di buffer ATL al pellet (in 100ul di PBS) delle urine, fresco o congelato, e agitare per spipettamento. Trasferire nella provetta apposita da 2ml*.

3.1.4 Estrazione da sperma

Aliquotare 200 ul di sperma fresco se il DNA viene estratto in giornata, o congelato se è stato pretrattato al momento dell'arrivo – vedi allegato 2 “Fase Pre-analitica: conservazione e pretrattamento campioni biologici”. Aggiungere 400 ul di buffer ATL e agitare per spipettamento. Trasferire nella provetta apposita da 2ml*.

Se il campione è almeno 1200 ul, estrarre da un'aliquota di 600 ul (quindi senza che sia necessario aggiungere ATL), e conservare l'altra aliquota nel caso fosse necessario ripetere l'estrazione.

* Tubes, conical, 2ml, QSYM AS (500) Qiagen 997102


(Stesse provette per aliquota campioni e per eluizione DNA)

Attenzione al volume di campione!

Il kit midi estrae il DNA da 400ul di campione, ma ne necessita di almeno 500ul.

Se il volume non è sufficiente, lo strumento non estrae il campione e lo dà invalido.

I campioni aliquotati nelle apposite provette da 2ml* devono essere stappati e alloggiati negli appositi adattatori (Tubi 3B) e poi posizionati nel rack porta campioni dello strumento QIA Symphony SP. *Fare attenzione a incastrare bene gli adattatori nel rack e le provette negli adattatori.*

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	Codice Aziendale CP005
	HPV typing Allegato 29 Estrazione automatica DNA da campioni biologici con QIA Symphony DSP	Pag. 3 di 9 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

PER TUTTI GLI ALTRI TIPI DI CAMPIONE

Consultare il biologo per valutare se possibile applicare il protocollo automatico o se necessario procedere con l'estrazione manuale (all. 5).

3.2 Conservazione e manipolazione dei reagenti

I reagenti per la purificazione del DNA sono contenuti in una cartuccia reagenti (RC). Ciascun recipiente della cartuccia reagenti (RC) contiene un particolare reagente, cioè particelle magnetiche, tampone di lisi, tampone di lavaggio oppure tampone di eluizione.
 I kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen devono essere conservati a temperatura ambiente (15–25°C). Le particelle magnetiche nelle cartucce reagenti (RC) rimangono attive se conservate a questa temperatura. Non conservare le cartucce reagenti (RC) a temperature inferiori a 15°C.
 Eventuali cartucce reagenti (RC) utilizzate solo parzialmente possono essere conservate per una durata massima di 4 settimane, chiuse con gli appositi tappi, a temperatura ambiente (15-25°C).

ATTENZIONE ALLA SCADENZA: lo strumento non lo segnala se scaduto

Per evitare l'evaporazione dei reagenti, la cartuccia reagenti (RC) deve rimanere aperta al massimo per 15 ore (compreso il tempo di processazione) ad una temperatura ambiente massima di 30°C.
 Quando si opera con sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per ulteriori informazioni, consultare le appropriate schede di sicurezza (SDS).

3.3 Purificazione automatizzata sul sistema QIA Symphony SP

3.3.1 Accendere il sistema QIA Symphony SP e attendere finché la procedura di inizializzazione non è terminata.

L'interruttore di alimentazione è collocato nell'angolo inferiore sinistro dello strumento QIA Symphony SP.

3.3.2 Eseguire il login nello strumento: supervisor > pw carozzi1 + ok.

3.3.3 Caricamento del cassetto "Eluate"

Caricare il rack per eluizione contenente le provette da 2ml senza tappo* identificate con gli id dei campioni da estrarre nel cassetto "Eluate", nello "Slot di eluizione 1", che ha il corrispondente adattatore di raffreddamento.

Importante. L'ordine delle provette di eluizione nel rack è A1, B1, C1, D1, A2, B2, ..., cioè in verticale. Chiudere il cassetto.

Selezionare sullo schermo lo slot 1 cliccandoci sopra. Da Configure, selezionare il tipo di provette di eluizione: Tube 2ml> sar#72.693 T2.0 screw: lo slot 1 sullo schermo diventa giallo.

Da Rack ID digitare il nome della seduta (data di estrazione), e dare ok.

Lo strumento fa la scansione.

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	Codice Aziendale CP005
	HPV typing Allegato 29 Estrazione automatica DNA da campioni biologici con QIA Symphony DSP	Pag. 4 di 9 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

* Tubes, conical, 2ml, QSYM AS (500) Qiagen 997102
(Stesse provette per aliquota campioni e per eluizione DNA)

3.3.4 Caricamento del cassetto Waste - “Materiali di scarto”

Due box unitari vuoti dei sample cartrige e degli 8- rod cover vengono riposti in appositi nel cassetto “Waste”.

Sul lato anteriore del cassetto “Waste” attaccare un sacchetto per raccogliere i puntali con filtro usati. Se necessario, sostituire il sacchetto.

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.

Un contenitore di scarico raccoglie i residui liquidi prodotti durante la procedura di purificazione. Il cassetto “Waste” 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.

Chiudere il cassetto e fare la scansione (“scan”).

Dare ok per uscire dallo schermo Waste.

3.3.5 Caricamento dei consumabili nel cassetto “Reagents and Consumables”

Caricare i box con i sample cartrige per la preparazione dei campioni, gli 8-rod cover, i puntali con filtro monouso da 200 µl (disposti nei rack blu) e da 1.500 µl (disposti nei rack grigi) nel cassetto “Reagents and Consumables”.

Nota: Accertarsi che i coperchi dei box unitari vengano rimossi prima di caricare i box nel cassetto “Reagents and Consumables”.

Nota: I puntali sono provvisti di filtri per impedire la cross-contaminazione.

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 sistema QIA Symphony SP identificherà il tipo di puntale caricato durante la scansione di inventario.

Il sistema QIA Symphony SP è in grado di utilizzare rack per puntali e box unitari parzialmente utilizzati.

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	Codice Aziendale CP005
	HPV typing Allegato 29 Estrazione automatica DNA da campioni biologici con QIA Symphony DSP	Pag. 5 di 9 Ed. 3 Rev. 1 22/12/2015
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	

Required plasticware

	One batch, 24 samples*	Two batches, 48 samples*	Three batches, 72 samples*	Four batches, 96 samples*
Disposable filter-tips, 200 µl†‡	34	60	86	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†‡	123	205	295	385
Sample prep cartridges§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Use of more than one internal control per batch and performing more than one inventory scan requires additional disposable filter-tips. Use of less than 24 samples per batch decreases the number of disposable filter-tips required per run.

† There are 32 filter-tips/tip rack.

‡ Number of required filter-tips includes filter-tips for 1 inventory scan per reagent cartridge.

§ There are 28 sample prep cartridges/unit box.

¶ There are twelve 8-Rod Covers/unit box.

3.3.6 Caricamento delle cartucce reagenti (RC) nel cassetto “Reagents and Consumables”

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, riposizionarlo nel telaio della cartuccia reagenti prima dell'uso e togliere la pellicola d'alluminio.

Controllare che i tamponi QSL2 e QSB1 non contengano un precipitato. Se necessario, rimuovere i recipienti contenenti i tamponi QSL2 e QSB1 dalla cartuccia reagenti e incubarli per 30 minuti a 37°C agitandoli di tanto in tanto per sciogliere il precipitato. Evitare di agitare energicamente la cartuccia

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	Codice Aziendale CP005
	HPV typing Allegato 29 Estrazione automatica DNA da campioni biologici con QIA Symphony DSP	Pag. 6 di 9 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

reagenti (RC) per prevenire la formazione di schiuma che potrebbe compromettere il rilevamento del livello del liquido.

Collocare la cartuccia reagenti sul relativo supporto grigio.

Quando si utilizzano una cartuccia reagenti per la prima volta, posizionare il coperchio perforante (pierce leads) sulla cartuccia reagenti, facendogli fare un piccolo scatto da entrambi i lati.
Se si utilizza una cartuccia reagenti già parzialmente utilizzata, rimuovere i tappi sigillanti.

Collocare il rack per enzimi (ER) lateralmente sul supporto della cartuccia reagenti e aprire le provette; conservare i tappi per la chiusura delle provette alla fine della seduta.

Scrivere sulla cartuccia la data di utilizzo e il numero di campioni estratti.

Le cartucce reagenti (RC) utilizzate solo parzialmente possono essere conservate fino al successivo utilizzo, chiuse con gli appositi tappi.

Si procede caricando la cartuccia reagenti (RC) nel cassetto "Reagents and Consumables", nell'apposito alloggiamento più verso l'interno dello strumento.

3.3.7 Caricamento del buffer ATL

Controllare se si è formato del precipitato nel tampone ATL. Se necessario, scioglierlo riscaldando il tampone a 70°C e agitandolo delicatamente in un bagno d'acqua. Aspirare le bolle d'aria dalla superficie del tampone ATL.

Nella schermata "R+C" premere il pulsante "Bottle ID" e scansionare il codice a barre del flacone del tampone ATL con l'apposito scanner dei codici a barre esterno. Premere "OK".

Accertarsi che il flacone del tampone ATL aperto venga collocato nel cassetto Reagents and Consumables nella posizione apposita alla destra della cartuccia reagenti.

Chiudere il cassetto.

3.3.8 Scansione dei reagenti e consumabili e verifica quantità.

Eseguire la scansione del cassetto. L'operazione richiede circa 10 minuti.

Dopo lo scan, dalla finestra R + C selezionare "Samples Calc" e selezionare protocollo utilizzato Pathogen > **Complex400_V4_DSP default IC**: lo strumento calcola i campioni che è possibile eseguire con il materiale caricato. Dare OK.

3.3.9 Preparazione delle miscele di carrier RNA-tampone AVE

Nota: Si raccomanda vivamente di utilizzare il carrier RNA (CARRIER). Se non si aggiunge il carrier RNA, il recupero degli acidi nucleici può risultare notevolmente ridotto.

Per preparare una soluzione madre contenente il carrier RNA (CARRIER), aggiungere 1.350 µl di tampone AVE (fornito in flaconcini da 2 ml) alla provetta contenente 1.350 µg di carrier RNA liofilizzato in modo da ottenere una soluzione di 1 µg/µl. Sciogliere completamente il carrier RNA (CARRIER), dividerlo in aliquote di opportune dimensioni e conservarlo a 2-8°C al massimo per 4 settimane.

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	Codice Aziendale CP005
	HPV typing Allegato 29 Estrazione automatica DNA da campioni biologici con QIA Symphony DSP	Pag. 7 di 9 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

3.3.10 Preparazione della miscela di carrier RNA-AVE per provetta

Per 1 campione: 3ul RNA carrier + 115ul buffer AVE

Il volume minimo di miscela di carrier RNA –tampone AVE deve essere in eccesso per tenere conto della perdita di liquido dovuta al pipettaggio e all’evaporazione.

Calcolo quantità di mix carrier RNA-AVE (in eccesso)

Dal software Qiasymphony managment consol > IC calculator

ACS (assay control set) > **Complex400_V4_DSP_default IC**

Inserire numero di campioni

Elution volume > 85ul

Labware > sar#72.693 T2.0 screw

Internal control = 0

+ calculate

+ print

Preparare la miscela in una o due provette** da 2ml (Sample tubes CB 2ml Qiagen 990382).

La/e provetta/e da 2ml contenente/i la miscela di carrier RNA–tampone AVE viene/vengono collocata/e in un adattatore tube 3B e collocato su un rack porta provette del qiasymphony. *Fare attenzione a incastrare bene gli adattatori nel rack e le provette negli adattatori.*

** Saranno necessarie 1 o 2 provette di micela carrier RNA-AVE a seconda del numero di campioni da estrarre.

Oppure consultare la scheda IC calculator relativa ai campioni da estrarre (allegata al protocollo)

3.3.11 Caricamento rack campioni e avvio estrazione

1. Posizionare il rack porta campioni sul carrello del cassetto Sample fino alla linea nera, e attendere che le frecce verdi inizino a lampeggiare
2. Inserire il rack ad una velocità costante.
3. Se il rack è inserito correttamente le frecce diventano arancioni e il rack viene bloccato.
4. Se l’inserimento non viene eseguito correttamente compare sul touch screen un alert. Rimuovere il rack e premere OK, e inserire di nuovo il rack.
5. Se le provette hanno il barcode questo viene letto dallo strumento, se non ce l’hanno va inserito a mano: cliccare sul batch e poi sul campione e da ID Type selezionare Sample ID e digitare il barcode
6. Se non viene riconosciuto il tipo di provetta, cliccare sopra il campione, e da “Sample tube” > tube 3B > sart 72.693 T2.0 screw
7. Premere Next (le frecce diventano rosse)
8. Premere Select all e selezionare il protocollo di estrazione: Pathogen > **Complex400_V4_DSP_default IC** + Next
9. Selezionare cliccandoci sopra lo slot 1 cioè il rack in cui eluire

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	Codice Aziendale CP005
	HPV typing Allegato 29 Estrazione automatica DNA da campioni biologici con QIA Symphony DSP	Pag. 8 di 9 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

10. selezionare il volume di eluizione: 85 µl + QUEUE

Dopo aver inserito le informazioni sul batch, lo stato passa da "LOADED" (caricato) a "QUEUE" (in coda).

11. Prima di far partire lo strumento selezionare sullo schermo "E", cliccare sullo slot e premere su View per vedere la posizione dove saranno eluiti i DNA. Cliccando sulla posizione si visualizza l'id del campione.

12. Verificare che tutti i campioni siano celesti (correttamente inseriti)

13. Caricare il rack con la miscela carrier RNA-tampone AVE nello **slot A** del cassetto Sample. Nella schermata Sample preparation cliccare su IC dopo che ha dato loaded, selezionare il tubo e associarci il protocollo richiesto cioè Required > **Complex400_V4_DSP_default IC** + ok

14. Chiudere lo sportello Sample (ma non è necessario)

15. Premere **RUN** e lo strumento parte.

Durata circa 90 minuti per 20 campioni.

3.3.13 Fine della seduta

Al termine dell'estrazione, lo stato del batch passa da "RUNNING" a "COMPLETED".

Da Eluate drawer si clicca sulla piastra e da view si verifica che tutti i pozzetti siano verdi. Se gialli significa che durante il processo si è verificato un problema, se rossi non sono accettabili.

Aprire il cassetto 4 e togliere rack con gli eluati.

Chiudere le provette dei DNA con i tappi a vite.

Da Eluate drawer CONFIG + Remove + YES, chiudere il cassetto e poi OK. Lo strumento esegue lo scan

Rimuovere i reagenti e mettere i tappi. Chiudere le provette contenenti la proteinasi K con i tappi a vite e chiudere il il tampone ATL subito dopo il termine del protocollo per evitare l'evaporazione.

La cartuccia è stabile a temperatura ambiente per 15 ore aperta dentro lo strumento, e per 4 settimane se chiusa con i tappi.

Rimuovere i campioni.

Rimuovere i rifiuti solidi e svuotare la tanica dei rifiuti liquidi.

3.3.14 UV

Da TOOL selezionare Maintenance SP e Start UV light + OK (dura 15 minuti)

Eseguire il LOGOUT e spegnere lo strumento.

3.3.15 Conservazione degli acidi nucleici

Per una conservazione a breve termine che non supera le 24 ore, si consiglia di mantenere gli acidi nucleici purificati a una temperatura di 2–8°C. Per una conservazione a lungo termine che supera le 24 ore, si consiglia una temperatura inferiore a -20°C.

Si consiglia di rimuovere le provette con gli eluati dal cassetto "Eluate" subito dopo il termine del processo. In base alla temperatura e al grado di umidità, le piastre per eluizione rimaste nel sistema QIA Symphony SP dopo il termine del processo possono essere esposte a condensa o evaporazione.

 ISTITUTO PER LO STUDIO E LA PREVENZIONE ONCOLOGICA	Istruzione operativa	Codice Aziendale CP005
	HPV typing Allegato 29 Estrazione automatica DNA da campioni biologici con QIASymphony DSP	Pag. 9 di 9 Ed. 3 Rev. 1
	S.S. LABORATORIO REGIONALE HPV E BIOLOGIA MOLECOLARE	22/12/2015

Allegati da consultare

- Allegato 30: Istruzioni per l'uso (manuale) del kit QIASymphony® DSP Virus/Pathogen
- allegato 28: check list prevenzione contaminazione da HPV

Stumentazione

Centrifuga

Vortex

Cappa a flusso laminare