

Dezembro 2017

Folha de protocolo do QIASymphony[®] SP

Protocolo VirusBlood200_V5_DSP

Este documento é a *Folha de protocolo do QIASymphony SP: VirusBlood200_V5_DSP* para o kit QIASymphony DSP DNA Mini, versão 1, R2.

Informações gerais

O kit QIASymphony DSP DNA destina-se a utilização em diagnóstico in vitro.

Este protocolo destina-se à purificação de ADN viral de sangue total humano recém-colhido, utilizando o QIASymphony® SP e o QIASymphony DSP DNA Mini Kit. O ADN viral de vírus libertados, assim como de vírus associados a células, é copurificado com ADN genómico de células sanguíneas.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (cat. n.º 937236)
Material para amostra	Sangue total humano (coagulado com EDTA ou citrato)
Nome do protocolo	VirusBlood200_V5_DSP
Conjunto de controlo do ensaio predefinido	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Editável	Volume de eluição: 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
Versão de software necessária	Versão 4.0 ou posterior

Bandeja "Sample" (amostra)

Tipo de amostra	Sangue total humano (coagulado com EDTA ou citrato)
Volume da amostra	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado; para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubos de amostras primários	Para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Tubos de amostras secundários	Para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Introdutores	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado; para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
Outro	Controlo interno—mistura de tampão ATE necessária; a utilização de controlo interno é opcional

Bandeja "Reagents and Consumables" (reagentes e consumíveis)

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagentes
Posição B1	n/a
Suporte de pontas 1–17	Pontas com filtro descartáveis, 200 µl ou 1500 µl
Suporte de caixa de unidades 1–4	Caixas de unidades contendo cartuchos de preparação de amostras ou mangas de 8 barras

n/a = não aplicável.

Bandeja "Waste" (resíduos)

Suporte de caixa de unidades 1-4	Caixas de unidades vazias
Suporte de saco de resíduos	Saco de resíduos
Suporte do frasco de resíduos líquidos	Frasco de resíduos líquidos vazio

Bandeja "Eluate" (eluato)

Suporte de eluição (recomendamos a utilização da ranhura 1, posição de arrefecimento)	Para obter mais informações, consultar www.qiagen.com/goto/dsphandbooks .
---	---

Material de plástico necessário

	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*
Pontas com filtro descartáveis, 200 µl†	26	50	74	98
Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl†	98	188	278	368
Cartuchos de preparação de amostras§	21	42	63	84
Mangas de 8 barras¶	3	6	9	12

* Utilizar mais que um tubo de controlo interno por lote e efectuar mais que uma inventariação requerem pontas com filtro descartáveis adicionais. A utilização de menos do que 24 amostras por lote diminui o número de pontas com filtro descartáveis necessárias para o ensaio.

† Estão disponíveis suportes de 32 pontas/pontas com filtro.

‡ O número de pontas com filtro necessárias inclui pontas com filtro para 1 inventariação por cartucho de reagente.

§ Estão disponíveis 28 cartuchos de preparação de amostras/caixa de unidades.

¶ Estão disponíveis doze mangas de 8 barras/caixa de unidades.

Nota: O número de pontas com filtros fornecidas pode diferir dos números visualizados no ecrã táctil, dependendo das definições. Recomendamos o carregamento do número máximo possível de pontas.

Volume de eluição seleccionado

Volume de eluição seleccionado (µl)*	Volume de eluição inicial (µl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* O volume de eluição é seleccionado no ecrã táctil. Este é o volume acessível mínimo de eluato no tubo de eluição final.

† O volume inicial da solução de eluição necessário para assegurar que o volume real de eluato é igual ao volume seleccionado.

Preparação do controlo interno–mistura de tampão ATE

A utilização do protocolo VirusBlood200_V5_DSP, em combinação com sistemas de amplificação que utilizem um controlo interno, pode requerer a introdução destes controlos internos no procedimento de purificação para monitorizar a eficiência da preparação de amostras e do ensaio downstream.

A quantidade de controlo interno que é adicionada depende do sistema de ensaio e do volume de eluição escolhidos no protocolo VirusBlood200_V5_DSP. O cálculo e a validação devem ser realizados pelo utilizador. Consultar as instruções do fabricante para o ensaio downstream para determinar a concentração ideal do controlo interno.

Os controlos internos devem ser adicionados com o controlo interno–mistura de tampão ATE num volume total de 60 µl. É possível utilizar uma mistura de controlos internos para analisar os diferentes parâmetros a partir de um único eluato. A compatibilidade dos diferentes controlos internos deve ser validada pelo utilizador. Recomendamos a preparação de misturas novas para cada ensaio, imediatamente antes de usar. Se não for utilizado qualquer controlo interno, ainda será necessário o tampão ATE.

Volume de eluição seleccionado (µl)	Volume de eluição inicial (µl)	Controlo interno do volume (µl)*	Volume do tampão ATE (µl)	Volume final por amostra (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

* O cálculo da quantidade de controlo interno baseia-se nos volumes de eluição iniciais. O volume morto adicional depende do tipo de tubo de amostra utilizado; consultar mais informações em www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Nota: Os valores apresentados na tabela dizem respeito à preparação do controlo interno–mistura de tampão ATE para um ensaio downstream que requer 0,1 µl de controlo interno/µl de eluato.

Os tubos contendo controlo interno–tampão ATE são colocados num porta-tubos. O porta-tubos contendo o controlo interno–mistura(s) de tampão ATE deve ser colocado na ranhura A na bandeja “Sample”.

Dependendo do número de amostras a processar, recomendamos a utilização de tubos de 2 ml (Sarstedt®, cat. n.º 72.693 e 72.694) ou tubos de base redonda de 14 ml 17 x 100 mm em polistireno (Becton Dickinson (BD™), cat. n.º 352051) para diluir o controlo interno, tal como descrito na tabela abaixo. É possível dividir o volume em 2 ou mais tubos.

Calcular o volume da mistura de controlo interno

Tipo de tubo [†]	Nome no ecrã táctil QIA Symphony	Calcular o volume da mistura de controlo interno por tubo
2 ml com tampa; microtubo de 2 ml, PP, SKIRTED, (Sarstedt, cat. n.º 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtubo de 2 ml com tampa; microtubo de 2 ml, PP, NON-SKIRTED, (Sarstedt, cat. n.º 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tubo de base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm em polistireno (Becton Dickinson, cat. n.º 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Usar esta equação para calcular o volume necessário de mistura de controlo interno (n = número de amostras; $60 \mu\text{l}$ = volume de mistura de controlo interno-mistura de tampão ATE; $360 \mu\text{l}$ = volume morto necessário por tubo). Por exemplo, para 12 amostras ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Não encher o tubo mais de 1,92 ml (ou seja, um máximo de 26 amostras por tubo). Se forem processadas mais de 26 amostras, usar tubos adicionais, garantindo que o volume morto é adicionado por tubo.

† Usar esta equação para calcular o volume necessário de controlo interno-mistura de tampão ATE (n = número de amostras; $60 \mu\text{l}$ = volume do controlo interno-mistura de tampão ATE; $600 \mu\text{l}$ = volume morto necessário por tubo). Por exemplo, para 96 amostras ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

‡ Consultar os introdutores necessários em www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Preparação do material de amostra

Ao trabalhar com produtos químicos, usar sempre equipamento de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (MSDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

Sangue total humano

Para isolamento do ADN viral, recomendamos a utilização de amostras de sangue total tratadas com EDTA ou citrato. As amostras devem ser processadas no prazo de 24 horas após a colheita. Guardar ou transportar as amostras entre 2 e 25 °C. Para um período de armazenamento mais longo, recomendamos congelar alíquotas a -20 °C ou -80 °C.

Se as amostras de sangue recém-colhidas forem utilizadas em tubos primários, misturar bem as amostras de sangue (por exemplo, invertendo os tubos várias vezes) antes de os colocar no QIA Symphony SP. Para assegurar uma transferência de amostra fiável, evitar a formação de espuma nos tubos de amostra. Tentar evitar coágulos de sangue nas amostras e, se necessário, transferir a amostra sem coágulos para um tubo limpo.

Histórico de revisões

Histórico de revisões do documento	
12-2017 R2	Atualização da versão de software 5.0 para o QIASymphony

Para informações actualizadas sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consultar o respectivo manual do kit QIAGEN® ou do utilizador. Os manuais do kit QIAGEN e do utilizador estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser pedidos à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Marcas registadas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™, (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Nomes registados, marcas comerciais, etc. utilizados neste documento, quando não assinalados como tal, não devem ser considerados como não protegidos por Lei.
12/2017 HB-0977-S07-002 © 2017 QIAGEN, todos os direitos reservados.

Encomendas www.qiagen.com/shop | Assistência técnica support.qiagen.com | Website www.qiagen.com