

Dezembro 2016

# Manual do usuário do Rapid Capture<sup>®</sup> System



**IVD**

**REF**



6000-3101

QIAGEN  
19300 Germantown Road  
Germantown, MD 20874

1105580PT Rev. 01

---

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, *digene*®, Hybrid Capture®, Rapid Capture® (QIAGEN Group); Corning® (Corning Incorporated); DuraSeal™ (Diversified Biotech); Eppendorf®, Repeater® (Eppendorf AG); Kimtowels® (Kimberly-Clark Corporation); Parafilm® (BEMIS Company, Inc.); Mylar® (DUPONT TEIJIN FILMS U.S. E. I. du Pont de Nemours and Company); PreservCyt®, ThinPrep® (Hologic, Inc.); VWR® (VWR International, Inc.); Windows®, Access® (Microsoft).

Os nomes registrados, marcas registradas, etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tais, não devem ser considerados como não protegidos pela lei.

Este produto e seu método de utilização são protegidos por uma ou mais das patentes a seguir:

Patente do Hybrid Capture nos EUA

6,228,578B1

Patentes para HPV nos EUA

© 2016 QIAGEN, todos os direitos reservados.

---

## Índice

DESCRIÇÃO DA APLICAÇÃO .....	1
ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES .....	4
Segurança do instrumento .....	4
Símbolos e convenções .....	4
Precauções de uso .....	5
Riscos químicos e biológicos .....	5
Riscos elétricos .....	5
Riscos mecânicos .....	7
Precauções para a instalação do sistema.....	7
DESCRIÇÃO DO SISTEMA FUNCIONAL .....	9
COMPONENTES DE HARDWARE .....	9
Unidade base .....	9
Mecanismo de movimento X/Y/Z/V (Braço) .....	10
Processador de amostras .....	10
Módulos da bomba de seringa e da bomba peristáltica .....	10
Adaptadores de ponteiras .....	11
Detector de líquidos .....	11
Estação de enxágue de ponteiras e drenagem .....	11
Manipulador robótico de placas com pinça para placas integrada .....	12
Empilhadores de placas e incubadoras .....	12
Posição e precisão da pipetagem .....	12
Agitador .....	13
Lavadora de placas .....	13
Leitor de código de barras .....	13
EQUIPAMENTO ADICIONAL .....	14
Multi-Specimen Tube Vortexer 2 e racks .....	14
Instrumento DML e sistema de software digene HC2 .....	14
Rapid Capture System Software .....	14
Ícones e descrições do Rapid Capture System Software .....	15
Ícones e descrições do software associado ao Rapid Capture System .....	15
Instalação do Rapid Capture System Software .....	15
Verificadores de vírus .....	16

Inicialização do Rapid Capture System	16
Manutenção de rotina do Rapid Capture System .....	19
Diariamente	19
Mensalmente	19
Procedimento de limpeza das linhas de tubulação e recipientes do Rapid Capture System	19
Precauções de segurança .....	19
Procedimento .....	19
Desligamento do sistema	22
Limpeza e substituição de seringas	24
Retirada.....	24
Recolocação .....	24
ASSISTÊNCIA E MANUTENÇÃO.....	25
ScriptSelect.....	25
Uso pretendido .....	25
Instalação do RCS ScriptSelect Software .....	26
Inicialização do RCS ScriptSelect Software .....	26
Procedimento de seleção de scripts .....	27
Lista de todas as opções possíveis do menu da tela de configuração	27
Botão View All Scripts.....	33
Como imprimir informações de script.....	35
Como associar o ScriptSelect Software ao Rapid Capture System Software.....	36
Tela de detalhes do script.....	37
Descrição do "Script Name" .....	37
"Member of Run List" (Membro da lista de execução) permite a ativação e a customização do menu de disponibilidade de scripts do Rapid Capture System Software.....	37
Status do script.....	38
Scripts bloqueados/ Desbloqueio de scripts .....	39
BOTÃO VIEW DEFINITIONS .....	41
Definições de script .....	42
CT/GC, CT-ID e GC-ID .....	44
Reagentes necessários e diretrizes.....	44
Preparação e armazenamento do reagente.....	45
Preparação de amostras e racks .....	47
Preparação de amostras para transferência no Rapid Capture System	47

---

Desnaturação de controles, calibradores e amostras do kit .....	50
Preparação da plataforma do Rapid Capture System .....	52
Preparação da plataforma .....	53
Preparação de reagentes .....	54
Inicialização da execução do Rapid Capture System.....	57
Leitura das microplacas e geração de resultados .....	68
Limpeza diária/do sistema .....	69
Limitações do procedimento .....	70
Resultados esperados.....	70
Características de desempenho.....	71
Precisão .....	71
Desempenho clínico comparativo do Rapid Capture System e de métodos manuais .....	72
Referências.....	75
RESUMO DO Rapid Capture System semiautomático .....	76
Para execução dos testes de DNA digene HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID HC2.....	76
Procedimento de aplicação de HPV de risco .....	77
I. Preparação e armazenamento do reagente.....	77
A. . Reagentes necessários: .....	77
B... Diretrizes dos testes de reagentes de HPV do Rapid Capture System .....	77
II. COLETA E MANUSEIO DE AMOSTRAS.....	78
A. . Escovas cervicais .....	78
B... Biópsias cervicais .....	78
C. . Amostras coletadas na solução PreservCyt .....	79
III. Processamento de amostra .....	79
Centrifuga e racks para tubos de várias amostras .....	79
Preparação de amostras e racks .....	79
Processamento e desnaturação de amostras da solução PreservCyt .....	82
Desnaturação de amostras do dispositivo de coleta de DNA digene HC2, calibradores e controles do kit .....	86
PREPARAÇÃO DO REAGENTE .....	89
IV. Preparação da plataforma do Rapid Capture System .....	91
A. . Preparação do deck .....	92
B... Preparação do reagente para o Rapid Capture System .....	93
V. Inicialização da execução do RCS.....	94
VI. LEITURA DAS MICROPLACAS E GERAÇÃO DE RESULTADOS.....	101

---

---

VII.	Limpeza diária/do sistema.....	102
VIII.	LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO .....	103
IX.	CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO.....	104
X.	CONSIDERAÇÕES ADICIONAIS DE DESEMPENHO AO USAR O RAPID CAPTURE SYSTEM.....	104
	A. . Transporte	104
	B... Estabilidade do reagente no sistema	106
	C. . Reprodutibilidade com amostras do STM	107
	C. . Precisão com amostras de solução PreservCyt	109
	D. . Resultados quantitativos de reprodutibilidade do teste de DNA de HPV de alto risco digene HC2 para amostras simuladas de solução PreservCyt ao usar o Rapid Capture System	110
	E... Concordância dos resultados da aplicação de HPV do Rapid Capture System com o método manual em amostras clínicas	113

---

## DESCRIÇÃO DA APLICAÇÃO

O Rapid Capture® System é um sistema automatizado de pipetagem e diluição para uso geral, que pode ser usado com os *digene*® Hybrid Capture® 2 (HC2) DNA Tests\* para testes de rendimento com alto volume de amostras. O sistema manipula até 352 amostras em um turno de oito horas, incluindo um período de 3,5 horas durante o qual não é necessária a intervenção do usuário. Em 13 horas, podem ser gerados até 704 resultados de amostras consecutivamente. A intervenção do usuário limita-se à preparação das amostras, ao carregamento dos racks de amostras na plataforma, à configuração da plataforma, à detecção do sinal quimioluminescente e à elaboração de relatórios dos resultados. Para atingir esse nível de semiautomação nos ensaios, o Rapid Capture System executa as 6 etapas procedimentais a seguir do método manual na plataforma de instrumentos:

- |                               |                             |
|-------------------------------|-----------------------------|
| 1. Pipetagem de amostras      | 4. Agitação de microplacas  |
| 2. Dosagem de reagentes       | 5. Incubação de microplacas |
| 3. Manipulação de microplacas | 6. Lavagem de microplacas   |

A desnaturação das amostras na preparação dos testes com os *digene* HC2 DNA Tests é executada de maneira independente do Rapid Capture System. Além disso, a detecção do sinal quimioluminescente amplificado e a elaboração de relatórios dos resultados são executadas com o uso de um sistema luminômetro off-line aprovado pela QIAGEN utilizando o sistema de software *digene* HC2. A agitação, a incubação e a lavagem de microplacas são executadas pelos mesmos tipos de equipamentos usados como acessórios de bancada separados para o método de teste manual. No entanto, esses equipamentos estão integrados na plataforma de instrumentos do Rapid Capture System. Cada etapa procedimental do *digene* HC2 é executada na mesma sequência que o procedimento de teste manual. A plataforma do Rapid Capture System permite o processamento escalonado de até 4 microplacas, com cada placa contendo amostras e os controles e calibradores necessários ao ensaio.

O operador prepara as amostras de acordo com as instruções apresentadas na versão atualizada das Instruções de Uso do *digene* HC2 DNA Test. Após carregar os racks na plataforma do Rapid Capture System, o operador retorna após um tempo definido para recolher a microplaca e realizar a etapa de detecção. O sinal amplificado gerado é detectado em um luminômetro quimioluminescente separado, aprovado pela QIAGEN, e os resultados são calculados e apresentados com o uso do sistema de software *digene* HC2. As instruções do luminômetro estão disponíveis no manual do usuário correspondente do luminômetro aprovado pela QIAGEN. Como os acessórios necessários para os *digene* HC2 DNA Tests e as etapas procedimentais continuam inalterados, o ensaio também pode ser realizado manualmente, conforme as instruções presentes nos rótulos dos produtos mencionados acima.

\*NOTA: Nem todos os *digene* HC2 DNA Tests foram aprovados para uso no Rapid Capture System. Consulte as Instruções de Uso do *digene* HC2 DNA Test em questão para averiguar se o ensaio e/ou tipo de amostra desejado é aprovado.

---

## DESCRIÇÃO DO INSTRUMENTO

O Rapid Capture System é um processador robótico de microplacas composto de componentes controlados por um microprocessador. O sistema é controlado com o uso de um software operacional residente no disco rígido de um PC requerido com interface com o Rapid Capture System. (Nota: Diferentes aplicativos de software residem nesse único PC, que controla tanto o Rapid Capture System quando o luminômetro aprovado pela QIAGEN.)

Especificações do Rapid Capture System (Para mais detalhes, consulte a seção Descrição do sistema funcional)

- Dimensões: (L x C x A) 116 x 73 x 66 cm.
- Todos os Rapid Capture Systems possuem fonte de alimentação autorregulada e operam a 100-240 VCA com uma frequência on-line de 47-63 Hz; as flutuações não ultrapassam 10% da tensão nominal.
- As medições de potência do Rapid Capture System, do PC e do luminômetro aprovado pela QIAGEN mostram um consumo total máximo de energia de 355 W/4,1 A a 120 VCA ou menos.
- Categoria de instalação II, Grau de poluição 2.
- Ambiente: 15-30°C; Umidade relativa máxima de 80% para temperaturas de até 31°C, diminuindo linearmente para 50% de umidade relativa a 40°C. Apenas para uso em ambientes internos, a até 2000 metros de altitude.

Nota: Essas especificações ambientais servem para o Rapid Capture System; as condições do *digene* HC2 DNA Test podem ser mais restritivas. Consulte o Procedimento de aplicação de alto risco para HPV e os Procedimentos de aplicação para CT/GC, CT-ID e GC-ID deste manual do usuário para ver outras considerações ambientais.

## MATERIAIS NECESSÁRIOS

O instrumento Rapid Capture System inclui:

- Rapid Capture System (Processador robótico de microplacas)
- Recipientes:
  - Líquido do sistema
  - Lavagem
  - Resíduos
- Cabo de alimentação

Equipamentos obrigatórios do Rapid Capture System 1

- Sistema do PC [inclui: CPU, Windows® 7, RCS System Software, RCS ScriptSelect Software]
- Kit do país [inclui: teclado, mouse]
- Monitor
- Impressora<sup>3</sup>
- Cabo da impressora
- Multi-Specimen Tube (MST) Vortexer 2
- Cabos RS232
- Luminômetro aprovado pela QIAGEN



## Reagentes<sup>2</sup>

Consulte o Procedimento de aplicação do *digene* HC2 DNA Test Rapid Capture System deste manual.

## Acessórios<sup>1</sup>

- *digene* Specimen Rack (azul) e tampa correspondente (para testes de sonda única e dupla de amostras de STM)
- Conversion Rack (prata) e tampa correspondente (para testes de sonda única e dupla de amostras de citologia líquida)\*
- DuraSeal™ Tube Sealer Dispenser e Cutting Device
- DuraSeal Tube Sealer Film
- Rapid Capture System Reagent Troughs
- Rapid Capture System Reagent Trough Lids
- Rapid Capture System Disposable Tips
- Rapid Capture System Drop-on Caps
- Microplaca de hibridização
- Tampas para microplaca
- Rack para tubos de coleta de amostras
- Tampas de rosca
- Rapid Capture System Microplate Well Strips
- Ponteiras de pipeta extralongas (200 µl) para transferência de amostras
- Tubos vazios para coleta de amostras

**\*Consulte as Instruções de Uso do *digene* HC2 DNA Test pertinente a respeito dos tipos de amostra aprovados para uso com o Rapid Capture System.**

## Equipamentos e acessórios necessários, mas não fornecidos

- Capa descartável para bancada
- Luvas-descartáveis sem pó
- Solução de hipoclorito de sódio, concentração final de 0,5% v/v
- Ponteiras de pipeta com barreira contra aerossóis para pipetador de canal único (20-200 µl e 200-1.000 µl)
- Tubos cônicos e tampas de polipropileno de 15 ml
- Ponteiras descartáveis para Pipeta Eppendorf® Repeater® (12,5 ml)
- Tubos de polipropileno de fundo redondo e tampa de pressão de 5 ml e/ou 15 ml
- Tubos cônicos de polipropileno de 50 ml
- Papel absorvente Kimtowels® ou toalhas de papel equivalentes sem fiapos
- Lenços umedecidos em álcool
- Etiquetas (resistentes à umidade e ao calor).
- Banho(s)-maria a 65 ± 2°C de dimensão suficiente para conter até 4 racks de tubos de amostras [(33 cm x 18,7 cm)]
- Micropipetador monocanal; configurações variáveis para volumes de 20-200 µl e 200-1.000 µl
- Pipetador de deslocamento positivo repetido, como o Eppendorf ou equivalente
- Temporizador

- Agitador tipo vórtex com encaixe para copo
- No-break, com capacidade  $\geq 1000$  VA, supressão de picos de tensão, filtragem de EMI/RFI.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Somente os equipamentos e acessórios fornecidos acima foram aprovados para uso com o Rapid Capture System e são disponibilizados pela QIAGEN.

<sup>2</sup>As características de desempenho desse sistema foram estabelecidas apenas com os kits de teste de reagentes e os dois kits de coleta de amostras indicados e disponibilizados pela QIAGEN. O uso de outros kits de teste de reagentes ou dispositivos de coleta de amostras exige a aprovação do usuário.

<sup>3</sup>Não conecte a impressora diretamente no no-break.




## ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

### Segurança do instrumento

Leia esta seção antes de operar o Rapid Capture System. Os operadores deste instrumento devem ser treinados tanto nas práticas comuns de segurança laboratorial quanto nos requisitos de segurança específicos para o Rapid Capture System. Se o equipamento for usado de maneira diferente da especificada pelo fabricante, a proteção oferecida pelo equipamento pode ser comprometida.

### Símbolos e convenções

A tabela a seguir é um glossário ilustrado dos símbolos usados no Rapid Capture System. Sempre que esses símbolos aparecerem nos instrumentos, observe os procedimentos de segurança adequados.

<p><b>CUIDADO</b></p> 	<p>Este símbolo é um alerta para consultar o manual em busca de outras informações e para proceder com cuidado.</p>
<p><b>CUIDADO</b></p> 	<p>Este símbolo ilustra um risco relacionado a uma superfície quente. Proceda com cuidado ao trabalhar perto dessas áreas para evitar queimaduras causadas por componentes quentes.</p>
<p><b>CUIDADO</b></p> 	<p>Este símbolo indica a presença de alta tensão e alerta o usuário para que proceda com cuidado.</p>



## Precauções de uso

Coloque o instrumento sobre uma bancada resistente, com largura suficiente para acomodar o Rapid Capture System (peso de 68 kg), o recipiente de líquido do sistema, o recipiente de lavagem e o PC. O equipamento não deve ficar perto de uma fonte de calor ou exposto a luz solar direta. Certifique-se de que o espaço para o posicionamento do contêiner de resíduos esteja a até 1,5 m do instrumento. O equipamento deve ficar perto de uma tomada elétrica de CA. Certifique-se de que as linhas de alimentação do equipamento tenham regulador de tensão e proteção contra picos de tensão.

São fornecidos recipientes para o líquido do sistema, o líquido de lavagem e para resíduos. Coloque os recipientes dos líquidos de lavagem e do sistema sobre ou próximo à bancada, no mesmo nível e perto do lado direito do instrumento. Preencha o recipiente de líquido do sistema com água desionizada ou destilada. Coloque o recipiente de resíduos em um ponto visível e seguro no chão, atrás do instrumento, para evitar derramamentos.



A incubadora de hibridização atinge uma temperatura programada de 65°C.

## Riscos químicos e biológicos

Consulte as Instruções de Uso do *digene* HC2 DNA Test a respeito de outros avisos e precauções relacionados a reagentes e amostras. Trate as tampas dos tubos de coleta de amostras como potencialmente infecciosas. Faça uso de precauções universais ao manusear amostras, uma vez que nenhum método de teste conhecido consegue garantir completamente que as amostras não transmitirão infecções.

**Use apenas componentes do *digene* HC2 DNA Test (específicos para a identificação de um determinado analito) do mesmo número de lote do kit ao ensaiar mais de uma placa. Não misture números de lotes de componentes diferentes. Consulte a seção Limitações do procedimento das Instruções de Uso do kit *digene* HC2 DNA a respeito das limitações e restrições de uso dos lotes de reagentes.**

## Riscos elétricos


O Rapid Capture System não apresenta riscos de choque elétrico incomuns aos operadores se for instalado e operado sem alteração e se estiver conectado a uma fonte de alimentação com as especificações exigidas. Consulte a seção Descrição do instrumento a respeito dos requisitos de energia detalhados.


Nota: Não conecte a impressora fornecida com o Rapid Capture System diretamente no no-break.

Os usuários devem conectar o Rapid Capture System no no-break. Isso permitirá que uma execução continue por pelo menos 30 minutos no caso de uma interrupção de energia e evitará possíveis danos ao instrumento devido à falha de energia durante uma execução.

Um conhecimento básico sobre riscos elétricos é essencial para a operação segura de qualquer sistema. Elementos de segurança elétrica incluem, entre outros:

- Inspeção periodicamente os cabos elétricos dentro e sobre o Rapid Capture System em busca de sinais de desgaste ou dano.
- Não desligue nenhuma conexão elétrica enquanto a energia estiver ligada.
- No caso de um fusível queimado, ligue para o representante local da QIAGEN para obter assistência. Somente funcionários qualificados devem realizar manutenções elétricas.
- Mantenha líquidos distantes de todos os conectores de componentes elétricos.
- Mantenha o piso seco e limpo embaixo e próximo do Rapid Capture System.
- Use apenas cabos de alimentação e acessórios elétricos aprovados, como os fornecidos com o instrumento, para evitar choque elétrico. Conecte os cabos de alimentação apenas em tomadas devidamente aterradas.
- Não toque em nenhum interruptor ou tomada com as mãos úmidas.
- Desligue o instrumento antes de desconectá-lo do cabo de alimentação de CA.
- Desconecte o instrumento antes de limpar grandes derramamentos de líquido.
- Recoloque todas as tampas de acesso antes de operar o instrumento.

<p><b>CUIDADO</b></p> 	<p>Para proteger a equipe operacional, a National Electrical Manufacturers' Association (NEMA) recomenda que o instrumento seja aterrado corretamente. O instrumento é equipado com um cabo de alimentação de CA com 3 condutores que, quando conectado a uma tomada elétrica de CA apropriada, aterrada o instrumento. Para preservar esse recurso de proteção, não opere o instrumento utilizando uma tomada elétrica de CA sem conexão terra.</p>
---	--

<p><b>CUIDADO</b></p> 	<p>Desconecte o cabo de alimentação de CA antes de remover ou instalar um fusível para evitar a possibilidade de lesão grave causada por choque elétrico. Somente funcionários qualificados devem realizar manutenções elétricas. Recoloque todas as tampas de acesso antes de operar o instrumento.</p>
---	--

O compartimento do fusível (lento) de linha de CA encontra-se abaixo do interruptor principal, na parte de trás do instrumento. Informações sobre a substituição de fusíveis da fonte de alimentação principal são especificadas na etiqueta situada abaixo do conector principal. Somente funcionários qualificados e autorizados devem realizar a substituição de fusíveis nos módulos internos. Ligue para o representante local da QIAGEN para obter assistência.

Consulte o manual do usuário apropriado a respeito dos avisos e precauções relacionados ao funcionamento do luminômetro aprovado pela QIAGEN, do MST Vortexer 2 ou de outros equipamentos.

---

## Riscos mecânicos

O braço robótico pode exercer força suficiente para oferecer um risco de esmagamento. NÃO acesse a plataforma do Rapid Capture System enquanto o instrumento estiver em funcionamento, a menos que o sistema tenha pausado e exibido uma caixa de diálogo indicando a necessidade de intervenção do usuário. Acessar a plataforma em qualquer outro momento durante uma execução pode resultar em lesão ao usuário e/ou na interrupção da execução.

NÃO remova a placa de segurança do instrumento.

O teclado do computador deve ser posicionado próximo ao Rapid Capture System para garantir o acesso à tecla Escape. A tecla Escape é considerada um mecanismo de parada de emergência.

Não use roupas ou acessórios que possam ficar presos no Rapid Capture System.

No caso de uma obstrução mecânica ou de outros problemas com o instrumento, entre em contato imediatamente com o representante local da QIAGEN para obter instruções adequadas.

O Rapid Capture System pesa mais de 68 kg. Não tente levantar ou mover o Rapid Capture System. Entre em contato com o representante local da QIAGEN.

## Precauções para a instalação do sistema

**Posicione o Rapid Capture System de maneira que o usuário consiga ouvir o alarme sonoro, permitindo sua atenção imediata no caso de um erro ou avaria.**

É fundamental que a plataforma do Rapid Capture System seja instalada e mantida exatamente como descrito neste manual do usuário. É igualmente fundamental que nenhum item estranho seja colocado sobre a plataforma do Rapid Capture System durante a operação.

- A observância estrita do uso e das limitações dos reagentes é essencial para a obtenção de resultados reprodutíveis e consistentes do ensaio. O não cumprimento das diretrizes de uso dos reagentes pode gerar ensaios inválidos e levar a resultados de amostras incorretos.
- Confirme se os recipientes de líquido do sistema e de lavagem estão cheios o suficiente antes do início de cada execução (consulte a seção Preparação e armazenamento do reagente nas Instruções de Uso do *digene* HC2 DNA Test pertinente).
- Esvazie o recipiente de resíduo líquido ao final de cada execução (consulte a seção Limpeza do sistema/diária do procedimento de aplicação do ensaio pertinente deste manual do usuário), já que não há detecção de nível de líquido no recipiente de resíduo. Se o preenchimento do contêiner atingir o nível da tubulação que se estende dentro do recipiente, a solução residual retornará e pode transbordar a estação de enxágue de ponteiros ou a estação de lavagem de placas na plataforma. Isso causaria a contaminação do instrumento com fosfatase alcalina. Como consequência, a execução pode ser invalidada.

- 
- Garanta que a tubulação que se estende do instrumento até o recipiente de resíduos líquidos **não tenha dobras e que não haja nós no caminho da tubulação** que impeçam o fluxo da solução residual para baixo. Garanta que a tubulação que sai do recipiente de líquido do sistema e do recipiente de resíduos não tenha dobras e esteja conectada corretamente. Observe principalmente os pontos onde a tubulação se liga aos recipientes e às portas de entrada do instrumento.
  - Esvazie o contêiner usado para recolher ponteiros descartáveis na frequência necessária para garantir que as ponteiros caiam da estação de ejeção de ponteiros sem nenhuma obstrução (consulte a seção Limpeza do sistema/diária do procedimento de aplicação do ensaio pertinente deste manual do usuário).
  - Se for incluída na execução uma placa com menos de 88 amostras, todos os poços da placa de captura que foram removidos para uso posterior devem ser substituídos por Rapid Capture System Microplate Well Strips.
  - **É fundamental inserir o número correto de amostras no software do Rapid Capture System. Caso contrário, isso pode levar a ensaios inválidos, resultados de amostras incorretos e falha do instrumento.**

---

## DESCRIÇÃO DO SISTEMA FUNCIONAL

O Rapid Capture System é um sistema automatizado de pipetagem e diluição para uso geral que pode ser usado com os *digene* HC2 DNA Tests para testes de rendimento com alto volume de amostras. O Rapid Capture System é um processador robótico de amostras controlado por computador. Todas as operações são conduzidas por um PC host que se comunica com nove microprocessadores integrados no instrumento por meio de uma ligação RS-232. O sistema é movido por uma fonte de alimentação chaveada com sensor de tensão da linha, e toda a energia é distribuída através do sistema a 240 V CA ou menos.

As funções controladas por software e os mecanismos do equipamento incluem:

- Transferência de amostras para a microplaca
- Adição de reagentes
- Lavagem de microplacas
- Incubação
- Agitação
- Um manipulador robótico transporta as microplacas entre as estações funcionais e move as tampas das placas e tampas dos reservatórios de reagentes.
- O controle de movimento das quatro ponteiras de pipetagem e do transporte de placas é realizado com oito servomotores CC, com o uso de codificadores rotativos ópticos para o controle de posição e velocidade.
- A manipulação de fluidos é realizada com 4 comandos de seringa de motor de passo, 2 bombas de diafragma CC e uma bomba peristáltica CC.
- Um agitador orbital de 4 placas é acionado por um motor de passo, assim como os eixos de transporte X e do coletor Z da lavadora de placas.
- A incubadora é controlada por um firmware e regula cada uma das 5 câmaras a 65°C. Cada câmara da incubadora contém uma gaveta com motor CC que se estende para permitir o carregamento/descarregamento das microplacas.
- Opcionalmente, a leitura automática dos códigos de barras das placas e a exportação para o sistema de software *digene* HC2 (disponível apenas com a atualização para códigos de barras do RCS)

## COMPONENTES DE HARDWARE

### Unidade base

A unidade base do Rapid Capture System é composta de:

- A) Subconjunto do chassi do instrumento (chassi da base, suportes da plataforma, plataforma mecânica, painéis laterais e superior, placa de segurança e tubo telescópico) e
- B) Subconjunto elétrico (fonte de alimentação, placas de circuito impresso (PCIs), blindagem, conectores e fusíveis).

---

## Mecanismo de movimento X/Y/Z/V (Braço)

Todos os movimentos X/Y/Z/V (V = VariSpan) do braço do Rapid Capture são acionados pelos motores CC com codificadores. Cada ponteira pode se movimentar de maneira independente das demais na direção Z (para cima e para baixo). As ponteiras são colocadas sobre a lâmina Y, que se move para frente e para trás (direção Y) dentro do braço do Rapid Capture System. O braço é colocado sobre a lâmina X localizada dentro da carcaça do instrumento e se move para a esquerda e para a direita (direção X).

O Rapid Capture System é equipado com o VariSpan – o espaçamento variável das ponteiras. Isso é feito pelo motor do VariSpan, que também é usado para variar o alcance da pinça para placas.

As posições de pipetagem podem ser especificadas com uma resolução de menos de 1 mm nas direções X/Y/Z.

## Processador de amostras

O Rapid Capture Robotic Microplate Processor vem com quatro ponteiras de amostragem transportadas pelo braço robótico. Cada ponteira é conectada à válvula de quatro portas de um módulo de bomba de seringa de precisão e pode aspirar, dosar e diluir na maioria das posições na superfície de trabalho do instrumento.

O software do Rapid Capture System controla a sequência, os volumes e os modos de pipetagem.

## Módulos da bomba de seringa e da bomba peristáltica

A bomba de seringa é uma seringa controlada por um microprocessador, com uma válvula de quatro portas conectada à seringa, à bomba peristáltica, às ponteiras de amostragem e ao reservatório de líquidos do sistema. O líquido é introduzido na seringa a partir do reservatório externo, e as ponteiras são enxaguadas pela bomba peristáltica. Todas as peças que entram em contato com o líquido são feitas de materiais inertes, como aço inoxidável, TEFLON®, FEP, Santoprene® etc.

Cada ponteira de pipeta do Rapid Capture System possui uma bomba de seringa exclusiva, que controla as funções de aspiração e dosagem da ponteira de amostragem.

A bomba peristáltica de quatro canais é usada para abastecer o líquido do sistema usado para enxaguar os tubos a uma vazão média de 2 ml/s/canal.



---

## Adaptadores de ponteiras

O Rapid Capture System possui quatro adaptadores de ponteiras. Cada ponteira apresenta um movimento independente na direção Z, enquanto o movimento de extensão das ponteiras (direção Y) é variável. Esse recurso é conhecido como VariSpan.

1. O Rapid Capture System utiliza ponteiras condutoras descartáveis de 300 µl.
2. Um procedimento automático verifica a presença de ponteiras descartáveis. Se não forem detectadas ponteiras descartáveis depois de quatro tentativas, o sistema pausa, e um alerta sonoro notifica o operador.

## Detector de líquidos

Cada ponteira no Rapid Capture System é equipada com um sensor de líquido, que permite a detecção de soluções iônicas por contato. Os detectores de líquidos monitoram alterações de capacitância entre a ponteira descartável da pipeta e a plataforma do Rapid Capture System. Quando a ponta descartável da pipeta toca a superfície do líquido, essa alteração repentina na capacitância gera imediatamente um sinal de detecção. A QIAGEN não garante o funcionamento adequado do detector de nível de líquido se os racks usados para conter as amostras e os reagentes não forem fornecidos pela QIAGEN.

O detector de nível de líquido é usado para detectar uma quantidade insuficiente ou a ausência total de controles, calibradores e líquidos reagentes.\* Se isso acontecer, o sistema para imediatamente e exibe uma caixa de diálogo, dando ao usuário a oportunidade de reabastecer os líquidos.

**\*A detecção de nível de líquido não é ativada durante a transferência de amostras.**

<p><b>NOTA:</b> Como o detector de nível não consegue identificar qual material causa uma alteração na capacitância, é indispensável que as ponteiras não toquem nenhuma superfície (p. ex., a espuma em cima do menisco) além do líquido a ser detectado.</p>
--

## Estação de enxágue de ponteiras e drenagem

As linhas do sistema e os adaptadores de ponteiras são lavados, através dos adaptadores de ponteiras, na estação de enxágue de ponteiras.

Quando os conjuntos de ponteiras são posicionados na estação, a água desionizada ou destilada do reservatório de líquidos do sistema é aspirada pela bomba peristáltica e impelida através de cada ponteira de amostragem. O fluxo é dispensado em um fosso da estação de enxágue de ponteiras e desce para a drenagem. As bolhas de ar nas linhas ou adaptadores são eliminadas. A tubulação leva o resíduo líquido da drenagem para um reservatório de resíduos.

---

## Manipulador robótico de placas com pinça para placas integrada

A pinça para manipulação de placas, que é parte integrante do manipulador robótico de placas, é usada para transportar microplacas, capturar placas e tampas de microplacas entre posições e módulos, como os empilhadores de placas, a torre da incubadora, posições de pipetagem, o agitador e a lavadora de placas.

O motor do VariSpan é usado para variar a extensão das ferramentas de duas pinças e possui um motor Z e um comando independente.

As placas são carregadas manualmente na plataforma do Rapid Capture (em posições móveis dos empilhadores e do agitador de placas) e são levadas pelas pinças até posições definidas automaticamente quando a execução se inicia.

## Empilhadores de placas e incubadoras

O empilhador de placas a temperatura ambiente fixa aloja microplacas e tampas de microplacas a alguns graus acima da temperatura ambiente durante incubações à temperatura ambiente.

A torre da incubadora de hibridização automática de cinco gavetas possui controle de temperatura, variando de ~5°C acima da temperatura do ar ambiente a 65°C, em gradações de 0,1°C.

Cada incubadora de hibridização consiste em cinco gavetas, que contêm prateleiras fechadas, isoladas da temperatura ambiente e da luz por portas motorizadas e acionadas por mola. A porta é aberta e fechada pela ação do motor/gaveta; o manipulador robótico de placas com pinças leva e recolhe a placa da gaveta individual.

## Posição e precisão da pipetagem

Para as etapas de pipetagem, o manipulador robótico com pinças para placas transporta a placa até uma posição de pipetagem. Esta consiste em uma placa permanente montada sobre a superfície da plataforma. A estação de pipetagem foi projetada para até duas microplacas e/ou tampas de microplacas de dimensão comum. Cada posição é definida na configuração da máquina, e a pinça para placas sempre deposita a placa correta na posição adequada, desde que as placas sejam colocadas nos locais próprios durante a preparação da plataforma do Rapid Capture System. (Consulte a Aplicação do *digene* HC2 DNA Test pertinente para obter instruções sobre a preparação adequada da plataforma.)

Todas as operações de transferência de amostras e adições de reagentes são realizadas com o uso de seringas de 500 µl operadas por bombas. A especificação a seguir é baseada na pipetagem de solução salina normal (0,9% NaCl com água desionizada ou destilada): com 10% do curso total e até o volume máximo de pipetagem da seringa, o CV % é igual ou inferior a 1%. Na pipetagem de volumes baixos de solução viscosa (ou seja, 25 µl de mistura de sonda), espera-se um CV máximo de 5%.

---

## Agitador

O agitador de placas é usado para mistura após adições de reagentes e de sonda e para agitação durante a incubação. O agitador acomoda até quatro placas. As posições do agitador possuem fixadores especialmente projetados, que prendem o conjunto da microplaca e sua tampa correspondente. A órbita possui diâmetro de 1,5 mm e velocidade de  $1.100 \pm 50$  rpm.

## Lavadora de placas

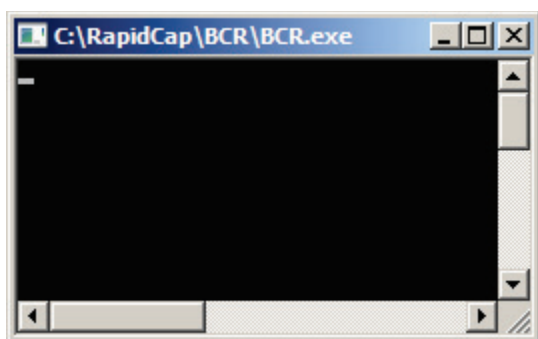
O Rapid Capture System possui uma lavadora de microplacas modular com um cabeçote de lavagem de oito canais, que oferece flexibilidade e velocidade. A lavadora utiliza bombas de aspiração e dosagem, um coletor com válvula solenoide e uma válvula de restrição para controlar a pressão do líquido. A lavadora pode funcionar de maneira independente das demais funções do Rapid Capture System devido aos recursos multitarefa do sistema. O recipiente de lavagem abastece a lavadora.

Para a Aplicação do *digene* HC2 DNA Test, a lavadora distribui  $1,5 \text{ ml} \pm 10\%$  em cada poço enquanto faz a aspiração do topo dos poços. A vazão é determinada pela pressão de distribuição de 10 psi e é estimada em  $500 \text{ } \mu\text{l/s}$ . Os poços são então aspirados a um volume residual médio máximo de  $7 \text{ } \mu\text{l/poço}$ . O ciclo de preenchimento/aspiração se repete seis vezes.

## Leitor de código de barras

Se o RCS for equipado com a atualização de código de barras, o leitor lê os códigos de barras das placas de hibridização e captura durante a execução. Os códigos de barras das placas ficam então disponíveis para associação no software DML (consulte o manual do usuário do software Suite pertinente para mais detalhes). O leitor de código de barras deve estar conectado ao PC do RCS.

A atualização de código de barras inclui um aplicativo que salva os códigos de barras lidos para serem usados pelo sistema de software *digene* HC2. Enquanto o aplicativo de leitura de código de barras está em execução, uma janela de comando é exibida no canto superior esquerdo da tela. Não feche a janela de comando. Ela será fechada automaticamente depois que o código de barras estiver salvo. Se a janela for fechada pelo usuário, o código de barras lido não será salvo.



---

A atualização de código de barras inclui uma funcionalidade para garantir que a placa de captura lida corresponda à placa de captura correta. No entanto, é importante que os usuários não troquem a sequência das placas no RCS (por exemplo, durante uma recuperação de erro) para garantir que a associação entre a placa de captura e a placa de hibridização esteja correta. A associação de placa incorreta pode levar a resultados errôneos.

## EQUIPAMENTO ADICIONAL

### Multi-Specimen Tube Vortexer 2 e racks

O Multi-Specimen Tube Vortexer 2, incluindo as amostras, os componentes acessórios dos racks e tampas, são necessários para a preparação, o processamento e a desnaturação das amostras. Estão disponíveis dois modelos diferentes de racks de amostras.

Nome do rack	Cor do rack	Uso pretendido
<i>digene</i> Specimen Rack	Azul	Testes de sonda única e dupla de amostras de STM.
Conversion Rack	Prata	Testes de sonda única e dupla de amostras de citologia líquida.* (Este rack acomoda tubos cônicos de 15 ml.)

### Instrumento DML e sistema de software *digene* HC2

O sistema foi projetado para medir e analisar a luz produzida por quimioluminescência dos *digene* HC2 DNA Tests.





\*Consulte as Instruções de Uso do *digene* HC2 DNA Test pertinente a respeito dos tipos de amostra aprovados para uso com o Rapid Capture System.

## Rapid Capture System Software

O Rapid Capture System inclui o RCS Software, com o aplicativo de leitura de código de barras e o ScriptSelect Software.


O **Rapid Capture Software** controla o Rapid Capture System. O Rapid Capture System Software é um pacote de controle de sistema flexível e simples de usar, que permite ao usuário automatizar os protocolos de ensaios baseados em microplacas. O Rapid Capture System Software é instalado no disco rígido do computador. O Rapid Capture System Software utiliza o sistema operacional Windows® 7, o que facilita sua aprendizagem e simplifica seu uso no dia a dia. O software utiliza o Microsoft Access®, que oferece flexibilidade, ligação em rede, transferência de arquivos host e multitarefas.

## Ícones e descrições do Rapid Capture System Software

Software	Ícone	Descrição do Software	Função
Rapid Capture System Software e ícones do menu		Software operacional do Rapid Capture System	Controla o instrumento
		<b>Executar</b>	Exibe a janela da lista de scripts
		<b>Enxaguar sistema</b>	Enxágua o sistema.
		<b>Estacionar</b>	Move o braço robótico do instrumento até a posição estacionada.

## Ícones e descrições do software associado ao Rapid Capture System

Os ícones do software indicados abaixo correspondem aos seguintes itens do menu:

Software	Ícone	Descrição e função do software
Rapid Capture System ScriptSelect Software		O <b>Rapid Capture System ScriptSelect Software</b> simplifica a interface de usuário para facilitar a seleção do script apropriado para uma execução do Rapid Capture System. Consulte a seção Procedimento de aplicação do Rapid Capture System ScriptSelect Software neste manual do usuário.

## Instalação do Rapid Capture System Software

O Rapid Capture System Software vem pré-instalado no computador do Rapid Capture System.

---

## Verificadores de vírus

A QIAGEN reconhece a ameaça de vírus de computador quando os computadores trocam dados. O *digene* HC2 System, incluindo o RCS, destina-se a ambientes onde existam políticas locais para minimizar a ameaça de vírus e onde o sistema NÃO esteja ligado à Internet. As políticas locais geralmente exigem o uso de uma ferramenta antivírus específica. Embora o RCS Software tenha sido testado em computadores protegidos pelo McAfee Endpoint Protection Essential for SMB e pelo Windows Defender, a QIAGEN não aprovou o uso do software do RCS com nenhum software de verificação de vírus. A seleção de uma ferramenta de verificação de vírus adequada é de responsabilidade do cliente.

O administrador do sistema deve garantir o seguinte:

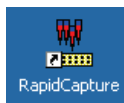
- Que os diretórios da QIAGEN seja excluídos da verificação de vírus. Para o software Suite, esses diretórios são:
  - C:\RapidCap
  - C:\Program Files\Selector
- Que o acesso aos arquivos não seja interceptado por um verificador de vírus quando o sistema RCS estiver em uso
- Que as atualizações do banco de dados de vírus não sejam executadas quando o sistema RCS estiver em uso
- Que as verificações de arquivos não sejam executadas quando o sistema RCS estiver em uso

A QIAGEN recomenda veementemente que a atividade do verificador de vírus seja desabilitada durante o horário de trabalho do laboratório para evitar interferência com a operação do *digene* HC2 System, inclusive do RCS. As tarefas do verificador de vírus descritas acima somente podem ser realizadas com segurança quando o *digene* HC2 System, inclusive o RCS, não estiver em funcionamento; caso contrário, há o risco de impacto negativo para o desempenho do sistema.

## Inicialização do Rapid Capture System

1. Ligue a energia do sistema do PC.
2. Clique no ícone da conta de usuário apropriada do Windows. O computador do RCS é configurado com duas contas de usuário administrativo e uma conta de usuário padrão. A QIAGEN recomenda que os usuários operem o software do RCS com a conta de usuário padrão. Os usuários não podem alterar os usuários do Windows enquanto o RCS estiver em execução. Use as credenciais a seguir (que diferenciam maiúsculas e minúsculas) para o sistema operacional Windows:
  - Conta de usuário administrativo:
    - ID de usuário: Administrator
      - Senha: *digene*
      - O sistema solicitará a troca da senha no primeiro logon na conta de administrador
  - Conta de usuário padrão:
    - ID de usuário: Welcome
    - Senha: welcome
  - A conta de usuário técnico destina-se ao uso pela equipe de assistência da QIAGEN.
3. Na tela de boas-vindas, digite a senha apropriada no campo de senha (a senha diferencia maiúsculas e minúsculas). Pressione a tecla "Enter" no teclado do PC do RCS.

- 
4. Após digitar a senha, será exibida a área de trabalho do Rapid Capture System com os ícones.
  5. Verifique se os adaptadores de pipetas e braços de pinças estão localizados na área das posições de pipetagem ou do rack de tubos de amostras (Figura 1). Caso contrário, levante manualmente os adaptadores e as pinças e mova o braço até o local adequado. Baixe os adaptadores e as pinças até seu ponto de parada natural correspondente. Confirme se não há itens avulsos na plataforma.
  6. Coloque o interruptor principal do Rapid Capture System na posição ligada. O interruptor de energia de alavanca está localizado no canto inferior direito do painel traseiro.
    - 6a. Posicione o teclado do computador de modo que ele fique próximo ao Rapid Capture System. Caso seja necessário parar o instrumento imediatamente, pressione a tecla Escape como um mecanismo de parada de emergência. Consulte a seção *Avisos e precauções* para ver outras instruções de segurança.
    - 6b. Inicie o software do Rapid Capture System dando um clique duplo no ícone da área de trabalho do **Rapid Capture System**.



Como alternativa, clique em "**Start**" (Início), "**Programs**" (Programas) e depois em "**Rapid Capture**".

7. Clique no ícone de "**Park**" (Estacionar) da barra do menu de ferramentas do RCS.



Os adaptadores de pipeta e o braço de pinça se movem devagar até a posição inicial, e o sistema inicializa todos os componentes e aciona a incubadora até que ela atinja 65°C.

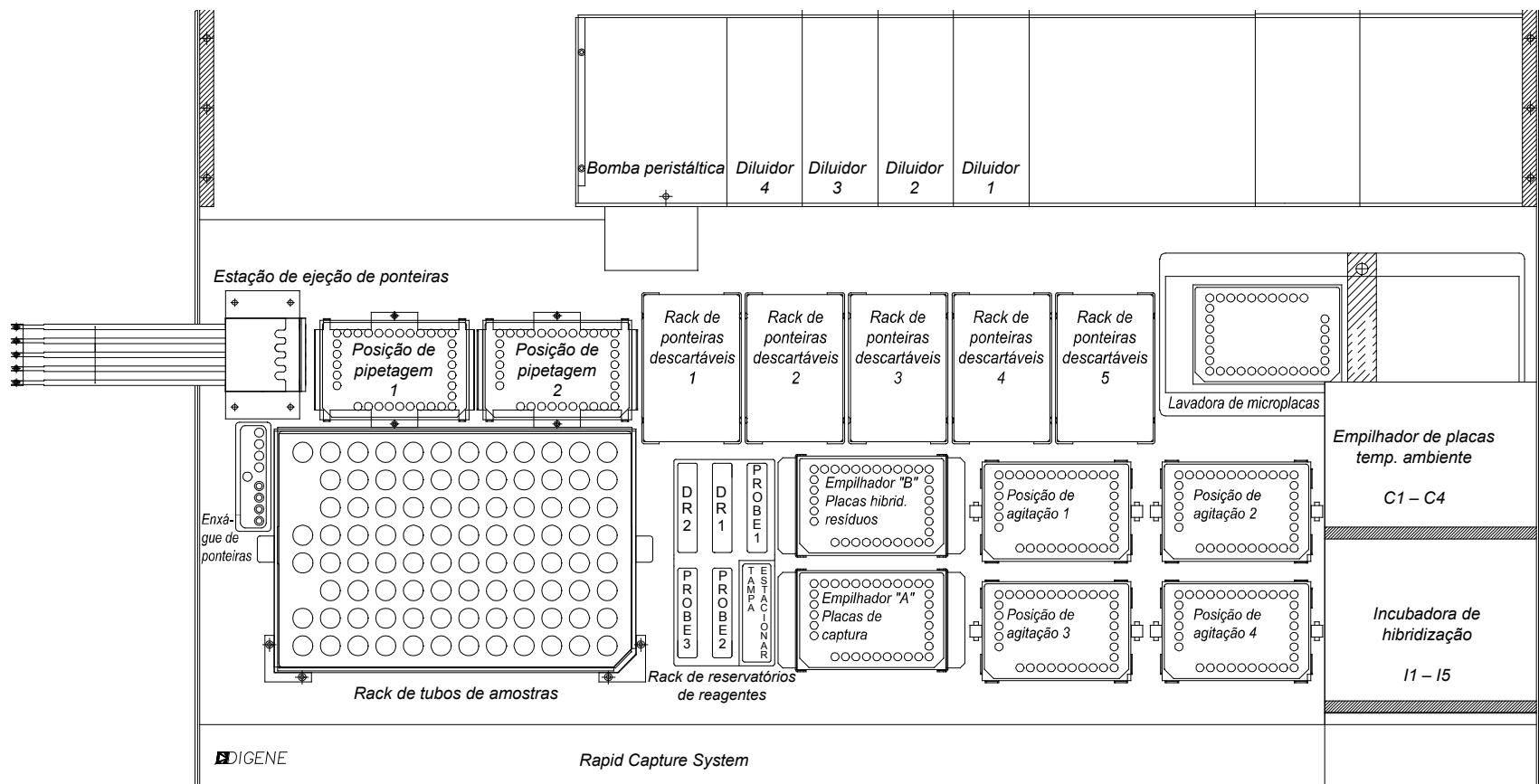


Figura 1: Disposição da plataforma do RCS



---

# Manutenção de rotina do Rapid Capture System

## Diariamente

Consulte o Procedimento de aplicação do *digene* HC2 DNA Test pertinente.

## Mensalmente

- a. Substitua os reservatórios de reagentes por novos reservatórios. Coloque as etiquetas apropriadas de Mistura de sonda, Reagente de detecção 1 ou Reagente de detecção 2.  
**Nota:** Não é necessário substituir as tampas dos reservatórios uma vez por mês.
- b. Para cada um dos cinco suportes de rack de ponteiras descartáveis, puxe as abas centrais nas extremidades frontal e traseira do suporte para o centro para garantir que as braçadeiras mantenham a tensão suficiente sobre os racks de ponteiras descartáveis.
- c. Limpe as linhas de tubulação e os recipientes do Rapid Capture System com solução de hipoclorito de sódio 0,5% v/v (veja o procedimento abaixo).

## Procedimento de limpeza das linhas de tubulação e recipientes do Rapid Capture System

### Precauções de segurança

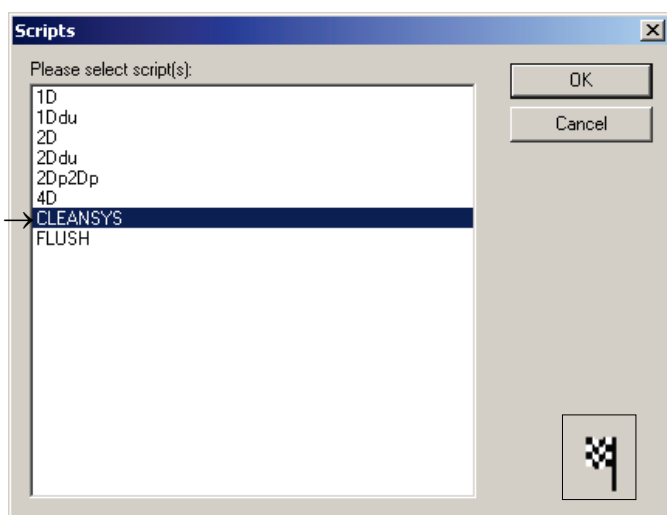
O usuário nunca deve acessar a área da plataforma quando o sistema estiver em operação.

Os usuários devem usar jaleco, luvas e óculos de segurança ao realizar esse procedimento.

### Procedimento

1. Para passar a solução de hipoclorito de sódio pelas linhas do sistema, proceda como a seguir:
  - 1a. **Verifique se o sistema está ligado, mas parado. Não deve haver nenhuma janela do Rapid Capture System Control Program aberta ou minimizada na tela do PC.**
  - 1b. Libere a conexão de desengate rápido do recipiente de líquido do sistema (água desionizada ou destilada). Para evitar a contaminação por fosfatase alcalina, coloque a extremidade desconectada da tubulação sobre um papel absorvente Kimtowels ou toalha de papel equivalente sem fiapos.
  - 1c. Remova a tampa e esvazie o recipiente em uma pia.
  - 1d. Encha o recipiente com 1 litro de solução de hipoclorito de sódio 0,5% v/v recém-preparada.
  - 1e. Recoloque a tampa do recipiente. Feche com firmeza.

- 1f. Cubra a saída de ar na tampa com Kimtowels Wiper ou uma toalha de papel equivalente sem fiapos e agite o recipiente vigorosamente para garantir que a solução de hipoclorito de sódio lave todas as superfícies internas, inclusive a tampa.
- 1g. Restabeleça a conexão na tubulação.
- 1h. Repita as etapas de b a g, desta vez com o recipiente de lavagem.
- 1i. Execute o script chamado **CLEANSYS**. Isso irá enxaguar completamente todas as linhas de líquido do sistema, inclusive as seringas e cânulas de lavagem de placas, com a solução de hipoclorito de sódio.
  - i.1. Inicie o software operacional do Rapid Capture System dando um clique duplo no ícone da área de trabalho do Rapid Capture System.
  - i.2. Clique no ícone de bandeira do menu principal do Rapid Capture System.
  - i.3. Selecione o script **CLEANSYS** e clique em OK.



- 
2. Para enxaguar os recipientes fora da linha com água desionizada ou destilada, proceda como a seguir:
    - a. Libere as conexões de desengate rápido do recipiente de líquido do sistema (água desionizada ou destilada) e do recipiente de lavagem. Coloque as extremidades livres da tubulação sobre Kimtowels Wipers limpos ou toalhas de papel equivalentes sem fiapos para evitar a contaminação por fosfatase alcalina.
    - b. Remova as tampas e esvazie os recipientes em uma pia.
    - c. Adicione 1 litro de água desionizada ou destilada no recipiente de líquido do sistema e 2 litros de água desionizada ou destilada no recipiente de lavagem.
    - d. Recoloque as tampas com firmeza.
    - e. Com cada recipiente, cubra a saída de ar na tampa com um papel absorvente Kimtowels ou toalha de papel equivalente sem fiapos e agite vigorosamente para enxaguar todas as superfícies internas com a água desionizada ou destilada.
    - f. Esvazie cada recipiente e repita o enxágue com água desionizada ou destilada mais uma vez, totalizando dois enxágues com água desionizada ou destilada para cada recipiente.
  3. Para enxaguar e preparar as linhas do Rapid Capture System, proceda como a seguir:
    - a. Depois que ambos os recipientes forem esvaziados do segundo enxágue com água desionizada ou destilada, encha o recipiente de líquido do sistema com água desionizada ou destilada, e o recipiente de lavagem com tampão de lavagem na concentração de trabalho 1X (consulte a seção *Preparação de reagentes* na seção *Procedimentos de aplicação para CT/GC, CT-ID e GC-ID* deste manual).
    - b. Recoloque a tubulação do instrumento até as tampas dos recipientes. Certifique-se de que cada recipiente esteja conectado à linha de tubulação correta. A porta de entrada de cada linha de tubulação no instrumento é etiquetada. Confirme se as válvulas de desengate rápido estão bem encaixadas no lugar.
    - c. Execute o script **CLEANSYS**. Isso irá substituir a solução de hipoclorito de sódio em todas as linhas por água desionizada ou destilada ou por tampão de lavagem, conforme apropriado.
  4. Para sanitizar o recipiente de resíduos, proceda como a seguir:
    - a. Libere ambas as conexões de desengate rápido do recipiente de resíduos. Certifique-se de que as extremidades desconectadas fiquem sobre um Kimtowels Wiper limpo ou uma toalha de papel equivalente sem fiapos para evitar a contaminação das superfícies do laboratório.
    - b. Remova a tampa e esvazie o recipiente em uma pia com cuidado. Enxágue a pia completamente, pois esse resíduo é uma fonte de fosfatase alcalina.
    - c. Adicione 2 litros de solução de hipoclorito de sódio 0,5% v/v recém-preparada ao recipiente.
    - d. Recoloque a tampa com firmeza.
    - e. Cubra a saída de ar na tampa com um Kimtowels Wiper ou uma toalha de papel equivalente sem fiapos e agite o recipiente para enxaguar todas as superfícies com a solução de hipoclorito de sódio.
    - f. Esvazie o recipiente e adicione 2 litros de água desionizada ou destilada.
    - g. Recoloque a tampa com firmeza.

- h. Cubra a saída de ar com um Kimtowels Wiper ou uma toalha de papel equivalente sem fiapos e agite o recipiente para enxaguar todas as superfícies com água desionizada ou destilada.
- i. Esvazie o recipiente na pia.
- j. Recoloque a tampa com firmeza e prenda novamente ambas as linhas de tubulação de resíduos no recipiente, garantindo que as válvulas de desengate rápido fiquem bem encaixadas no lugar. As linhas de líquido e os recipientes do sistema agora estão limpos e prontos para uso. Lembre-se de registrar a data, o número de série do instrumento e as suas iniciais no histórico de manutenção.

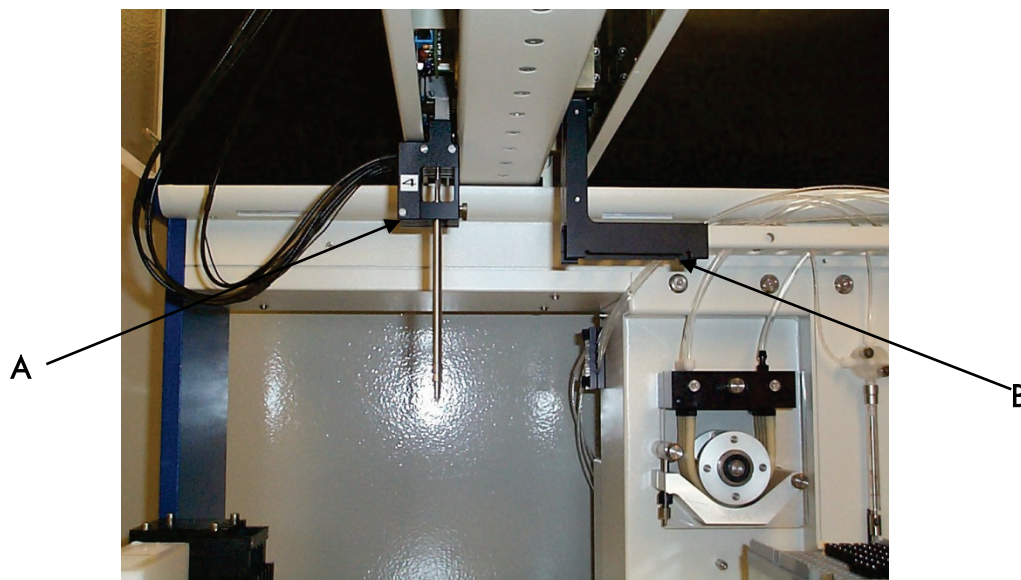
## Desligamento do sistema

**Nota:** Não é necessário desligar a energia após a conclusão do procedimento de aplicação.

O Rapid Capture System estaciona o manipulador de placas e os conjuntos de ponteiras de pipetagem com segurança no final de cada script. O interruptor de energia está localizado no canto inferior direito do painel traseiro. Se for necessário desligar o Rapid Capture System, segure o manipulador de placas e os conjuntos de ponteiras de pipetagem por baixo com as mãos.

Duas pessoas, então, devem realizar as etapas a seguir:

1. A primeira pessoa deve segurar os conjuntos de ponteiras (A) colocando uma mão sob o plástico preto na base de cada barra vertical. Tome cuidado para não empurrar ou puxar as barras na horizontal, pois seu alinhamento é sensível.
2. A primeira pessoa deve segurar as pinças para placas (B) por baixo com a outra mão. (Esta etapa não é necessária após a conclusão de um ensaio, pois as pinças já estarão perto da superfície da plataforma.)



3. A segunda pessoa agora pode desligar a energia usando o interruptor localizado no canto inferior direito do painel traseiro. Se houver uma placa nas pinças, remova-a agora.
4. A primeira pessoa agora pode mover o manipulador de placas para a posição P1 (veja a figura 1: Disposição da plataforma do RCS) usando o manipulador de placas, e **não** os conjuntos de ponteiras para puxar o braço até a posição correta. Agora, os conjuntos de ponteiras e o manipulador de placas podem ser baixados até a plataforma.

- 
5. Se houver ponteiros descartáveis nos adaptadores de ponteiros, é melhor deixar o Rapid Capture System descarregá-los ligando a energia novamente e executando o script **Flush** (Enxaguar). Se isso não for possível devido a uma avaria, remova as ponteiros individualmente puxando-as **para baixo** em linha reta enquanto segura o plástico preto na base de cada barra vertical. É fundamental que os conjuntos de ponteiros não sejam puxados na horizontal! Os usuários devem seguir precauções universais referentes a materiais potencialmente infecciosos. Não coloque nenhuma parte da mão sob uma ponteira descartável enquanto puxa para baixo para removê-la.

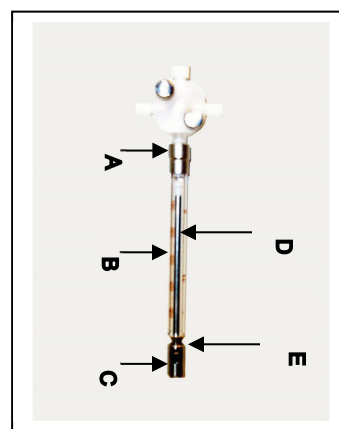
## Limpeza e substituição de seringas

Se for necessário substituir as seringas por causa de vazamentos, bolhas ou contaminação interna (p. ex., partículas, cristais etc.), desligue o instrumento e remova as seringas dos módulos de bomba de seringa conforme a descrição abaixo. Entre em contato com o representante local da QIAGEN para encomendar seringas para reposição.

### Retirada

**Nota:** As seringas são de vidro. Tenha cuidado ao manuseá-las.

1. Confirme se a energia está desligada.
2. Desrosqueie o conector Luer-lock (A) da seringa da abertura inferior da válvula.
3. Puxe o corpo da seringa (B) para baixo devagar até liberá-lo da válvula.
4. Solte o parafuso que retém o êmbolo (C) e, com cuidado, afaste a seringa do pino de acionamento do êmbolo (E).
5. Se a seringa estiver vazando, limpe-a ou substitua-a. Para limpar a seringa, remova o êmbolo (D) do corpo da seringa, lave com um detergente neutro, enxágue com água desionizada ou destilada e, em seguida, com isopropanol a 70%.



### Recolocação

1. Coloque a base do êmbolo da seringa sobre o pino de acionamento do êmbolo (E) e aperte o parafuso na parte inferior do êmbolo (C).
2. Puxe o corpo da seringa para cima até que o conector Luer-lock (A) na seringa possa ser introduzido no encaixe Luer-lock na abertura inferior da válvula e, em seguida, parafuse a seringa na válvula no sentido horário com cuidado. Tome cuidado para não parafusar de maneira inclinada, desalinhando a rosca.

**NOTA:** Certifique-se de que todos os parafusos da válvula, a conexão Luer-lock, todas as conexões seringa-tubulação e o parafuso do êmbolo estejam apertados para evitar vazamento.

3. Ligue a energia e estacione o instrumento. Verifique se a seringa inicializa.
4. Execute os scripts Flush pelo menos duas vezes para verificar se há vazamentos. Enxágue o sistema até que as bolhas de ar na seringa ou na tubulação sejam removidas.

---

# ASSISTÊNCIA E MANUTENÇÃO

**IMPORTANTE:** Somente funcionários treinados e autorizados devem executar toda a manutenção, com exceção do que for abordado neste manual do usuário.

## ScriptSelect

### Procedimento de aplicação

#### Uso pretendido

Os scripts definem o conjunto específico de instruções do software do Rapid Capture System (RCS). O script controla a sequência de processamento necessária para executar um *digene* Hybrid Capture 2 (HC2) DNA Test no Rapid Capture System. Existem 43 scripts definidos no Rapid Capture System. Os scripts oferecem flexibilidade ao usuário em relação ao número e ao tipo de amostras e ao tipo de *digene* HC2 DNA Test para uma execução específica do Rapid Capture System. Eles geralmente são designados para uso com vários *digene* HC2 DNA Tests.

O Rapid Capture System ScriptSelect Software ajuda o usuário na seleção do script necessário para a execução de um *digene* HC2 DNA Test no Rapid Capture System. Ele funciona gerando uma série de opções de tela, em que o usuário faz seleções com base no *digene* HC2 DNA Test específico, no número de sondas, nos *digene* Specimen Racks, racks de conversão e configurações de sonda. O usuário deve selecionar um script do RCS ScriptSelect Software para adicioná-lo ao menu de execução do Rapid Capture System.

**Nota:** Alguns dos 43 scripts são designados para futuras aplicações e não estão disponíveis para uso atualmente. Quando esses scripts estiverem disponíveis, a QIAGEN distribuirá uma senha para desbloqueá-los. Os avisos legais sobre aplicações não aprovadas pela FDA, bem como as declarações sobre aplicações aprovadas pela FDA, são apresentados na seção "Avisos legais:" de várias janelas e na seção "Avisos legais:" das versões impressas.

# Instalação do RCS ScriptSelect Software

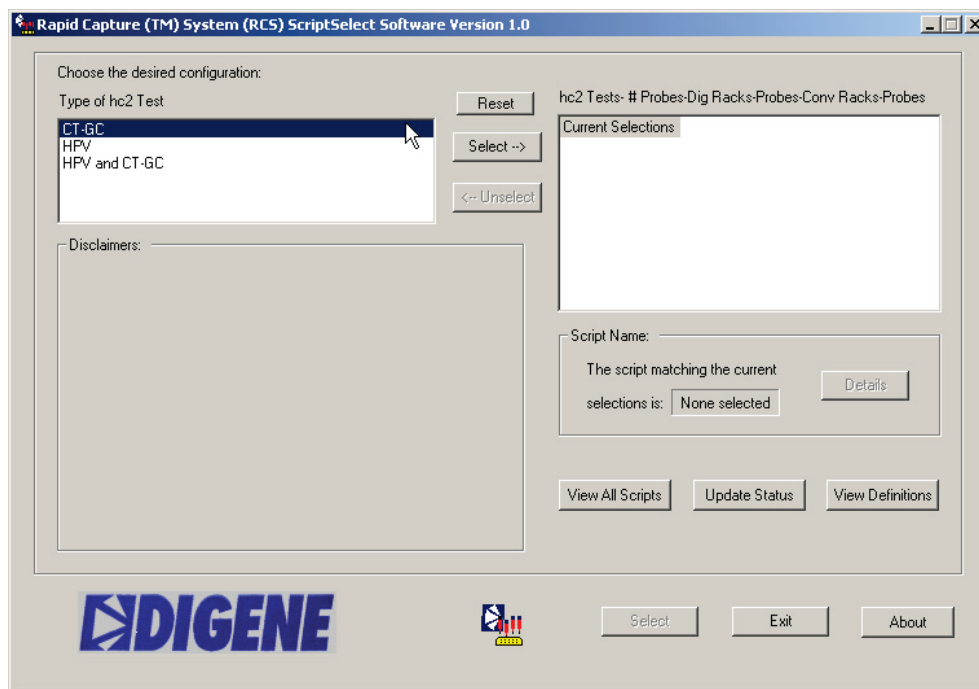
O RCS ScriptSelect Software é instalado no computador do Rapid Capture System pela equipe de assistência da QIAGEN.

## Inicialização do RCS ScriptSelect Software

Dê um clique duplo no ícone de atalho na área de trabalho.



A janela principal do **RCS ScriptSelect Software** é exibida.





# Procedimento de seleção de scripts

**Nota:** O software foi projetado para oferecer opções específicas para o usuário com base na seleção anterior. As telas de opção do menu são ignoradas quando há apenas uma opção. O software ficará predefinido para usar a única configuração possível com base nas seleções anteriores do usuário.

## Lista de todas as opções possíveis do menu da tela de configuração

- **"Type of Assay to be run" (Tipo de ensaio a ser executado):** Selecione o *digene* HC2 DNA Test a ser executado.
- **"Number of Probe(s)" (Número de sondas):** Selecione o número de sondas a ser usado.
- **"Number of Rack(s) with *digene* Specimens" (Número de racks com *digene* Specimens):** Selecione o número de *digene* Specimen Racks a ser usado.
- **"Probe Configuration(s) with *digene* Specimens" (Configuração(ões) da sonda com *digene* Specimens):** Selecione os tipos de sonda a serem usados para as amostras no(s) *digene* Specimen Rack(s).
- **"Number of Conversion Rack(s)" (Número de racks convertidos):** Selecione o número de racks de conversão (do tipo de amostra convertido) a serem usados.
- **"Probe Configuration(s) with Converted Specimens" (Configuração(ões) da sonda com amostras convertidas):** Selecione os tipos de sonda a serem usados para amostras no(s) rack(s) de conversão.

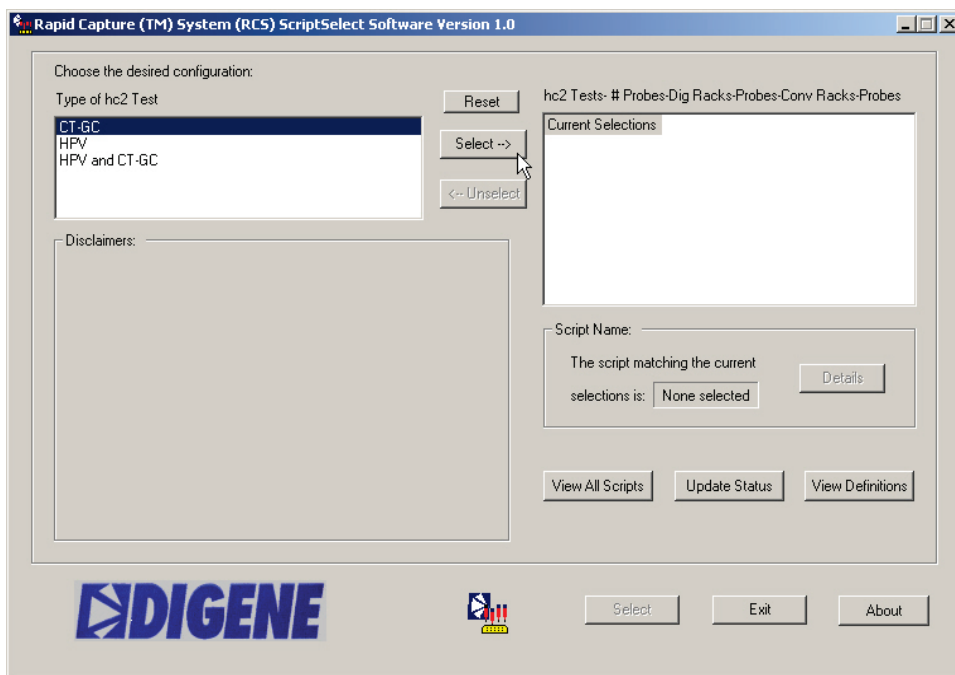
### Notas:

- Para selecionar uma opção na caixa de diálogo esquerda da janela principal, dê um clique duplo na opção ou realce-a e clique no botão **Select (Selecionar) - >**.
- À medida que as configurações são selecionadas, elas são transferidas para a janela à direita. A seleção das configurações pode ser cancelada dando um clique duplo na seleção na janela à direita ou realçando a seleção e clicando no botão **< - Unselect** (Cancelar seleção). Para cancelar a seleção de mais de uma opção de uma vez, clique no nível mais alto.

**Nota:** As capturas de tela a seguir do RCS ScriptSelect tentam mostrar as possíveis configurações disponíveis para seleção.

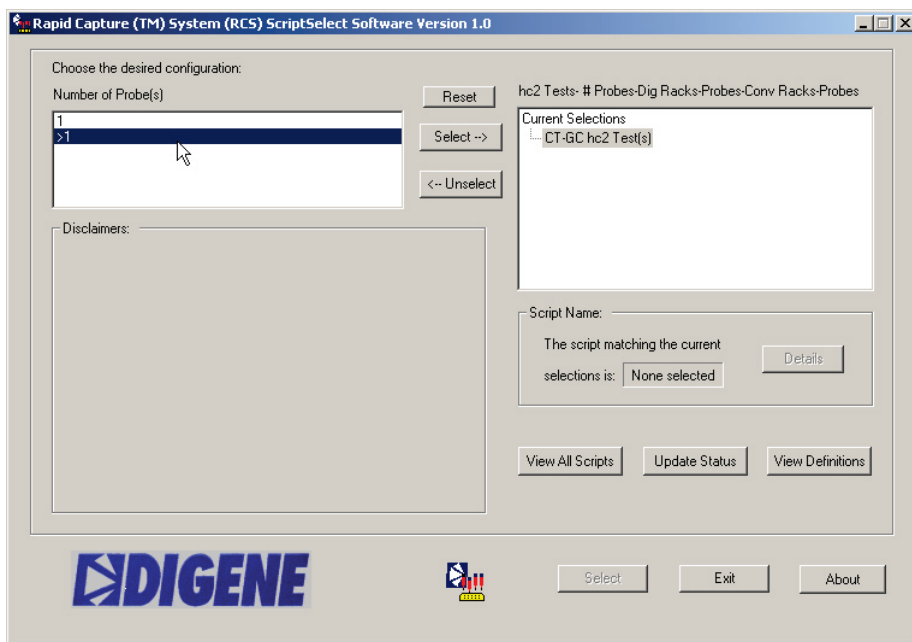
1. Selecione o tipo de *digene* HC2 DNA Test a ser executado.

Na tela principal do **ScriptSelect**, o usuário deve selecionar primeiro o tipo de *digene* HC2 DNA Test(s) desejado para uma execução do Rapid Capture System. Estão disponíveis três opções: CT-GC, HPV ou HPV e CT-GC.

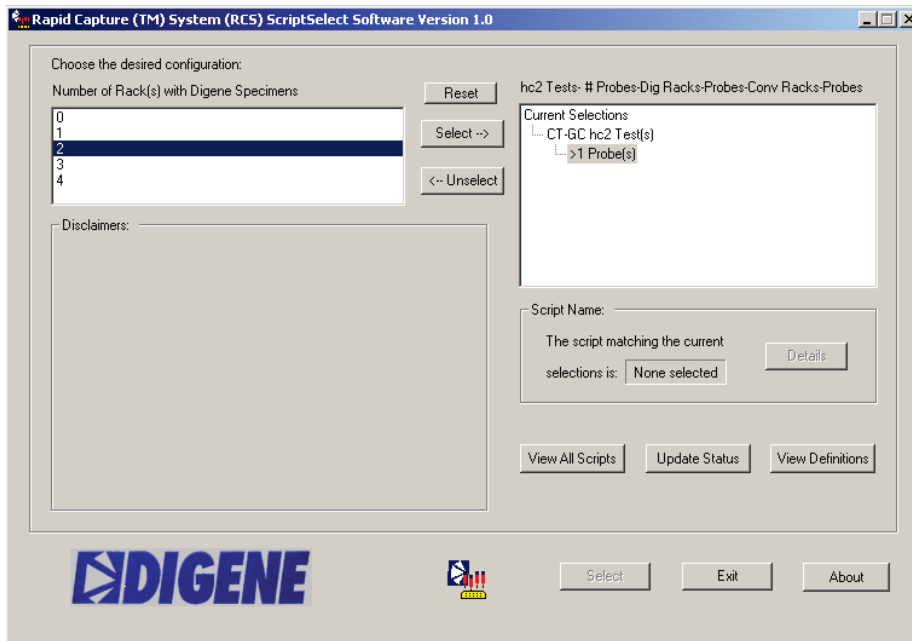


2. O usuário seleciona, em seguida, o número de sondas desejado. Estão disponíveis duas opções. Selecione ">1" se forem executadas várias sondas.

A opção "1" é selecionada se apenas um tipo de sonda for necessário.



3. Selecione o número de *digene* Specimen Racks a ser usado.



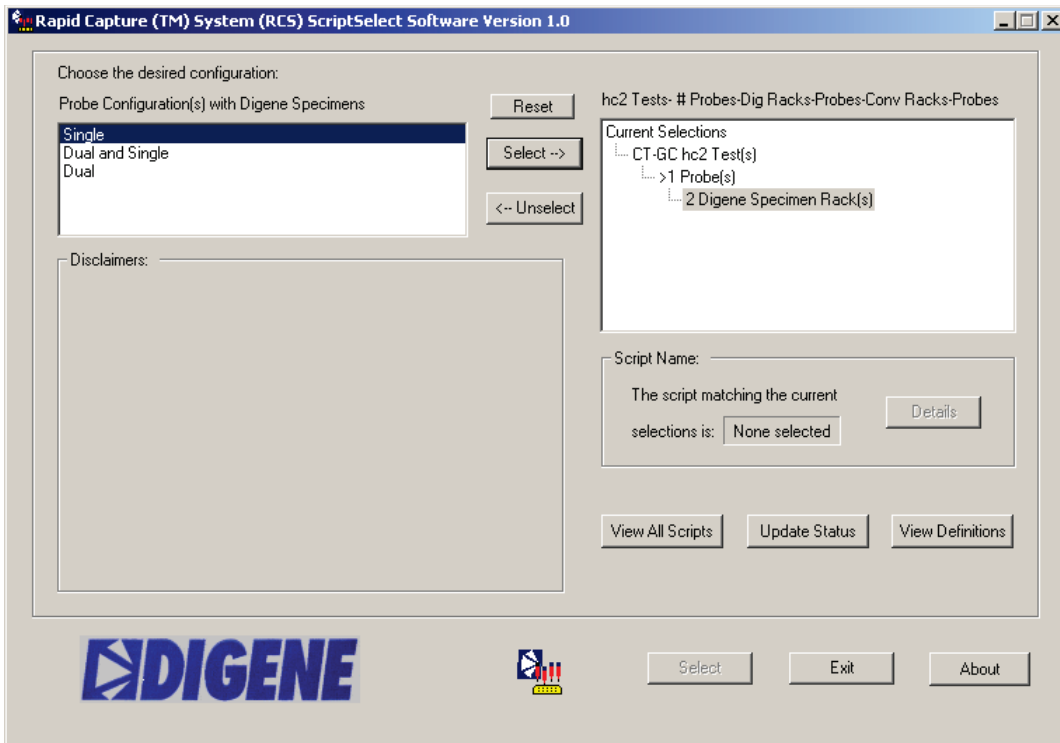
4. Selecione a(s) configuração(ões) da sonda a ser(em) usada(s) com o *digene* Specimens:  
"Single" (Única), "Dual and Single" (Dupla e única) e "Dual" (Dupla)

**Nota:** O número de tipos de sondas testadas com um rack de amostras determina a configuração da sonda a ser usada.

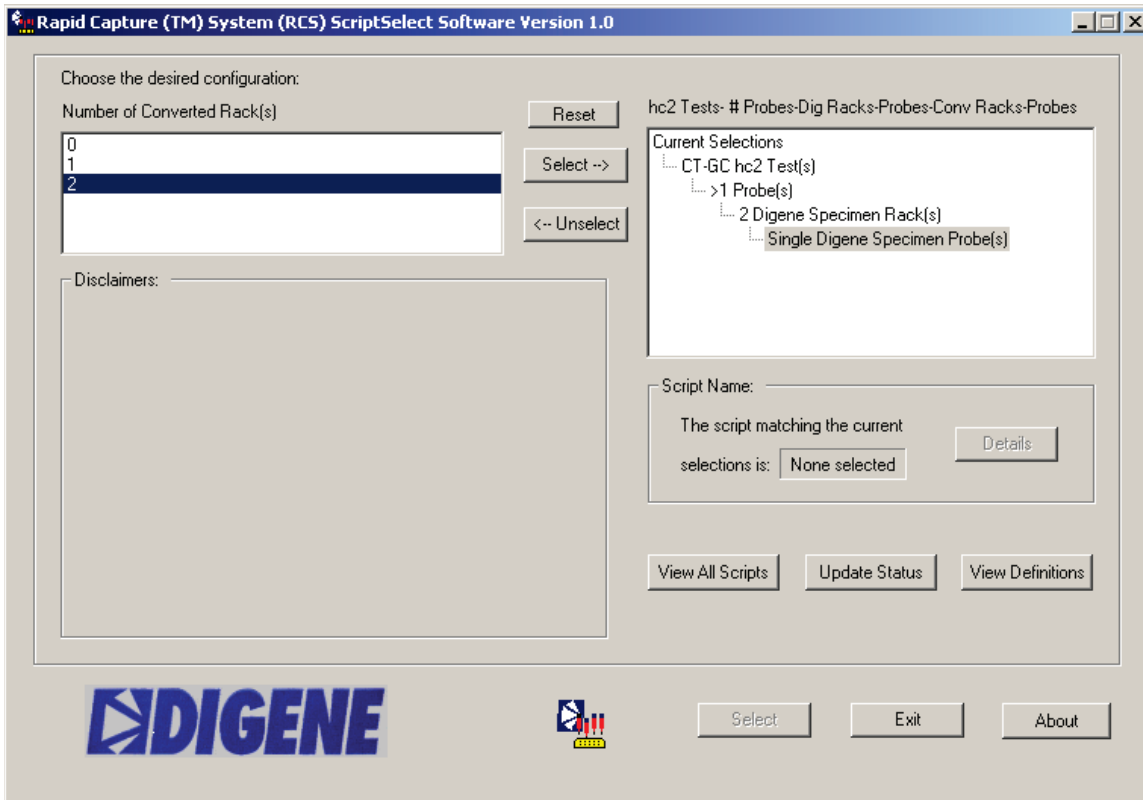
A opção "**Single**" indica que o(s) rack(s) de amostras é/são testado(s) apenas com um tipo de sonda. A seleção de "**Single**" não limita a execução a uma única sonda. Pode ser usado mais de um tipo de sonda; no entanto, cada rack de amostras é testado com um único tipo de sonda.

A opção "**Dual**" indica que o(s) rack(s) de amostras é/são testado(s) apenas com dois tipos de sonda. Por exemplo, um *digene* Specimen Rack será testado com a sonda CT e com a sonda GC.

A seleção "**Dual and Single**" indica que o *digene* Specimen Rack é testado com duas sondas e que o(s) outro(s) rack(s) é/são testado(s) com um tipo de sonda.



5. Seleccione o "Number of Converted Racks" (Número de racks convertidos) a ser usado.

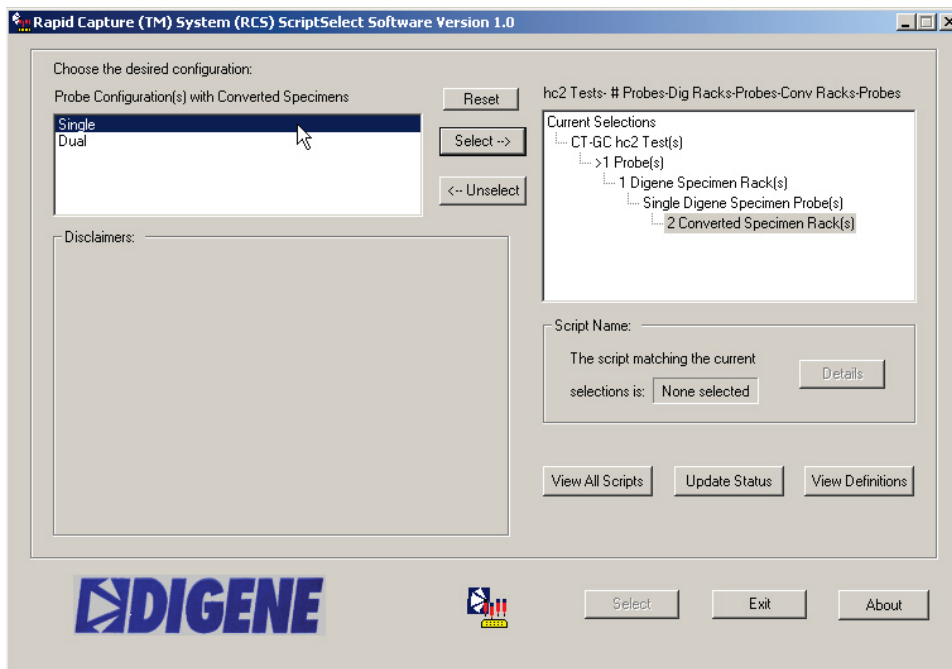


6. Selecione Probe Configuration(s) with Converted Specimens (configuração(ões) da sonda com amostras convertidas).

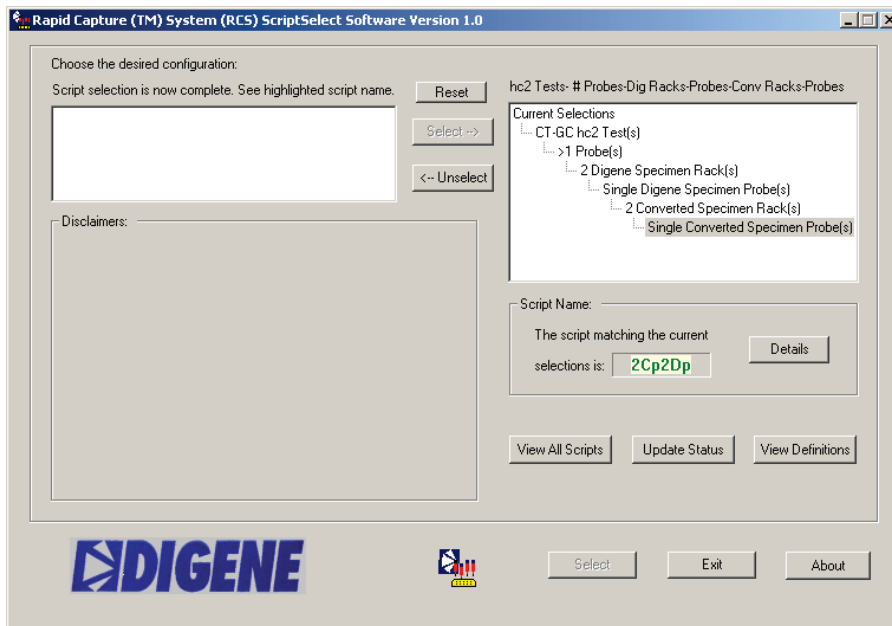
**Nota:** O número de tipos de sondas testadas com um Conversion Rack determina a configuração da sonda a ser usada.

A opção "**Single**" indica que o(s) rack(s) de conversão é/são testado(s) apenas com um tipo de sonda. A seleção de "**Single**" não limita a execução a uma única sonda. Pode ser usado mais de um tipo de sonda; no entanto, cada Conversion Rack é testado com um único tipo de sonda.

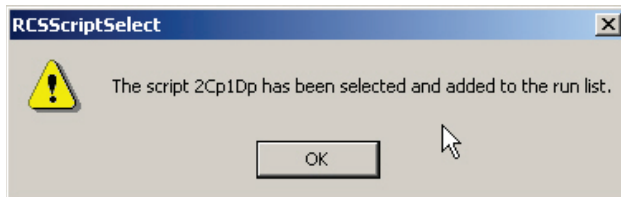
A seleção de "**Dual**" indica que o(s) rack(s) de amostras é/são testado(s) apenas com dois tipos de sonda.



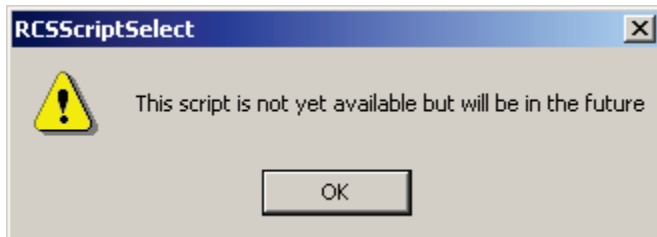
7. O Script Name (nome do script) é exibido.



8. Clique no botão **Select** para adicionar o **Script** à lista de execução do Rapid Capture System. Se a aplicação do script for aprovada para uso no Rapid Capture System, será exibida a caixa de diálogo a seguir:

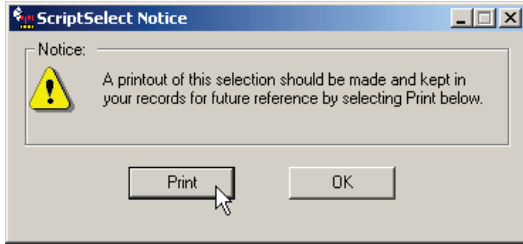


9. Se a aplicação do script não for aprovada para uso no Rapid Capture System, será exibida a caixa de diálogo a seguir:

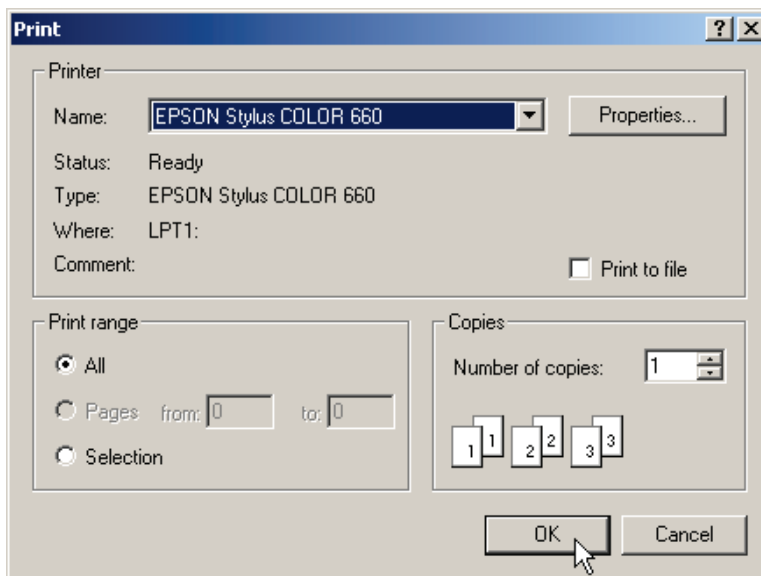


**Nota:** Alguns dos 43 scripts são designados para futuras aplicações e não estão disponíveis para uso atualmente. Quando esses scripts estiverem disponíveis para uso, a QIAGEN distribuirá uma senha para desbloqueá-los com o uso do software ScriptSelect.

10. Se o script for aprovado e estiver disponível para uso, a janela **ScriptSelect Notice** (Aviso do ScriptSelect) será exibida (consulte a seção *Como imprimir informações de script* desta seção para mais detalhes).



11. Selecione "Print" (Imprimir).
12. A janela "Print" (Imprimir) será exibida. Selecione "OK" para imprimir as informações do script.



## Botão View All Scripts

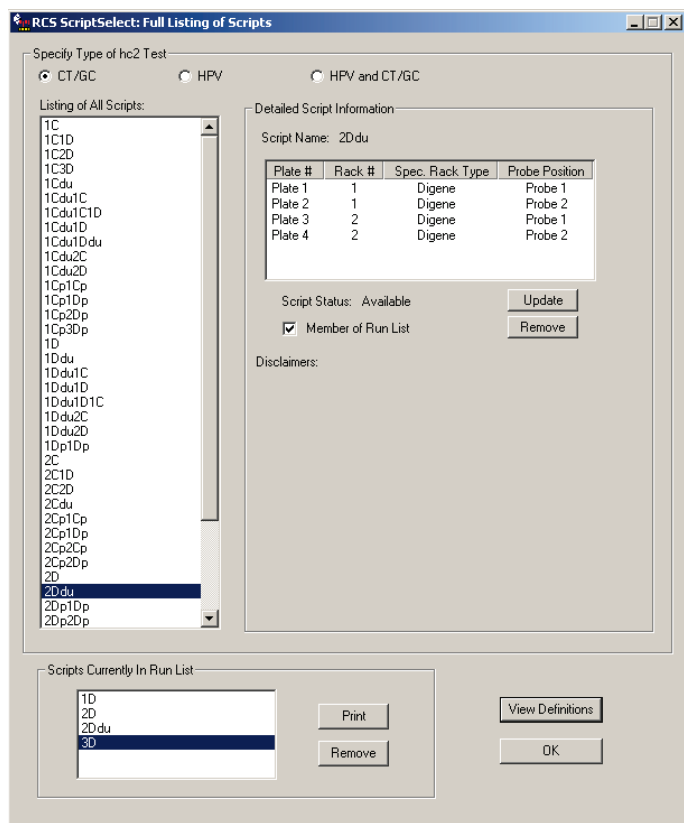
Clique no botão "**View All Scripts**" (Exibir todos os scripts).

O botão "**View Scripts**" (Exibir scripts) exibe uma lista completa de todos os scripts instalados no sistema. No entanto, alguns scripts são designados para futuras aplicações e não estão disponíveis para uso atualmente.

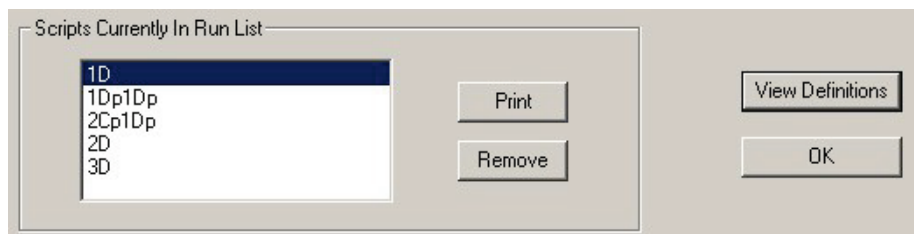
Selecione o tipo de *digene* HC2 DNA Test (CT-GC, HPV ou HPV e CT-GC). Realce o nome de um script para exibir as informações de um script específico da caixa "**Listing of All Scripts**" (Listagem de todos os scripts).

A seleção ativa a janela "**Detailed Script Information**" (Informações detalhadas do script) e lista as informações da placa/rack/sonda de cada placa. Um clique duplo em "script name" na caixa da lista "**Listing of All Scripts**" ativa "script name" e o adiciona à lista de execução do Rapid Capture. Os nomes dos scripts podem ser adicionados ou removidos da lista de execução clicando no botão "**Select**" ou "**Remove**" (Remover) nesse agrupamento. Os scripts ativados também podem ser removidos da lista de execução clicando no botão "**Remove**" na caixa do agrupamento "**Scripts Currently in Run List**" (Scripts na lista de execução atualmente).

Janela "Scripts Currently in Run List": Lista todos os scripts que foram adicionados à lista de execução do Rapid Capture System.



Ao clicar no botão "Remove", o script selecionado será excluído da lista de execução do Rapid Capture.

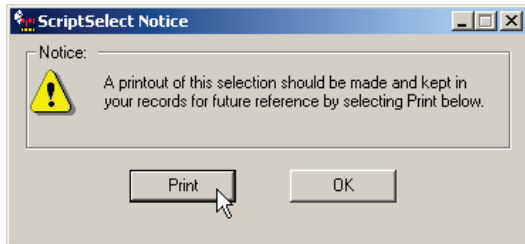


Ao clicar em "Print" nessa tela, a caixa de diálogo "Print" é exibida. Clique em "OK" para imprimir os detalhes do script selecionado.



# Como imprimir informações de script

## Opção de impressão 1:



Clique no botão **"Print"** na caixa de diálogo **"ScriptSelect Notice"** para imprimir o script selecionado. Abaixo encontra-se um exemplo de impressão, que contém o "script name" selecionado, informações da placa/rack/sonda e os avisos legais normativos pertinentes.

RCS ScriptSelect Software version 1.0

This script was last selected using the RCS ScriptSelect software on: 01/15/04 3:43 PM

### Selected Parameters:

Type of hc2 Test:	CT-GC
Number of Probe(s):	>1
Number of Rack(s) with Digene Specimens:	2
Probe Configuration(s) with Digene Specimens:	Dual and Single
Number of Converted Rack(s):	0

Script Selected : 1Ddu1D

### Plate/Rack Configuration:

Plate #	Rack #	Spec. Rack Type	Probe Position
Plate 1	1	Digene	Probe 1
Plate 2	1	Digene	Probe 2
Plate 3	2	Digene	Probe 3

### Disclaimers:

## Opção de impressão 2:

A impressão a seguir pode ser obtida ao selecionar "**View All Scripts**", na janela principal do RCS ScriptSelect, e "**Print**", na janela "**Scripts Currently in Run List**":

RCS ScriptSelect Software version 1.0

This script was last selected using the RCS ScriptSelect software on: 01/20/04 11:20 AM

Script Selected : 1Ddu1D

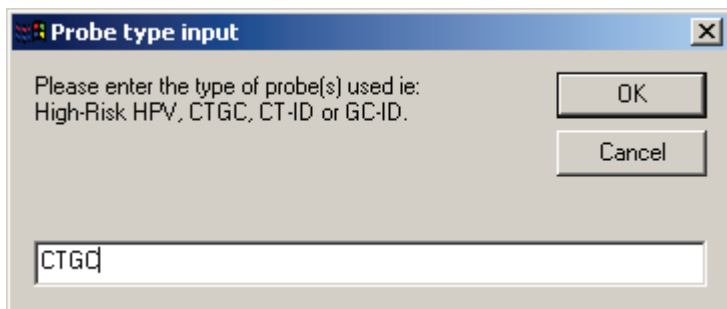
Plate/Rack Configuration:

Plate #	Rack #	Spec. Rack Type	Probe Position
Plate 1	1	Digene	Probe 1
Plate 2	1	Digene	Probe 2
Plate 3	2	Digene	Probe 3

Disclaimers:

## Como associar o ScriptSelect Software ao Rapid Capture System Software

Quando o nome de um script é selecionado ao clicar no botão "**Select**", o script é movido automaticamente para a lista de execução do Rapid Capture no Rapid Capture Software. No Rapid Capture Software, o usuário seleciona o script, e a caixa de diálogo a seguir é ativada:



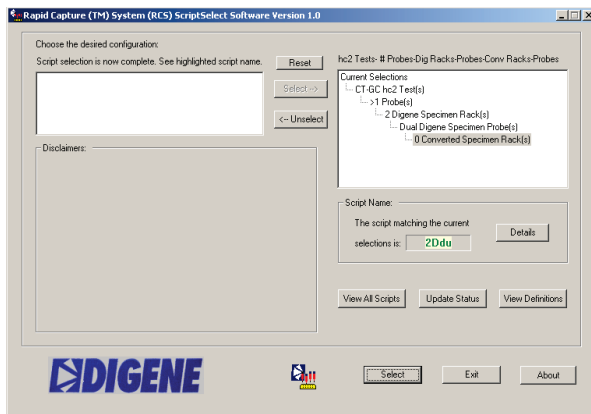
O usuário deve inserir o(s) Probe(s) usado(s) na execução. Essas informações são impressas na impressora padrão junto com o "script name" selecionado, a data e a hora.

O usuário pode então comparar o nome do arquivo do script selecionado no ScriptSelect Software ao nome selecionado no Rapid Capture Software para confirmar se o script selecionado é o correto. O usuário também deve verificar as amostras da placa, os tipos de rack e os locais da sonda do ensaio que está sendo executado.

# Tela de detalhes do script

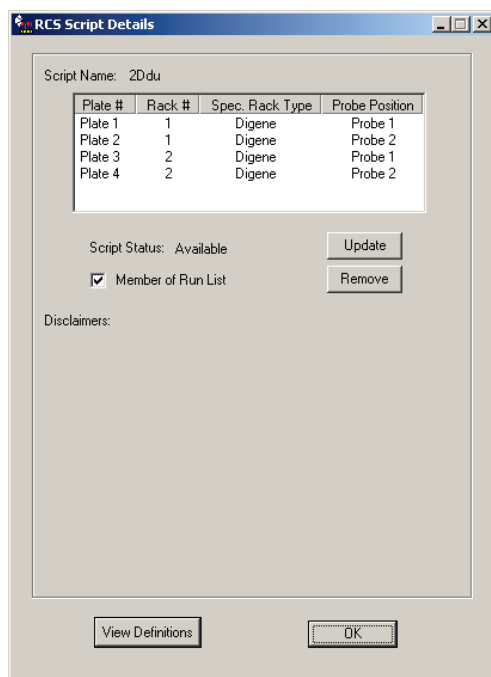
## Descrição do "Script Name"

Uma listagem detalhada da disposição da placa/rack/sonda pode ser visualizada na tela principal do **ScriptSelect** ao clicar no botão "**Details**" (Detalhes) depois que um script for selecionado.



A tabela lista as placas por número da placa, número do rack de cada placa, tipo de rack de amostra (*digene* Specimen Rack ou Conversion Rack) de cada placa e posição de cada sonda de cada placa.

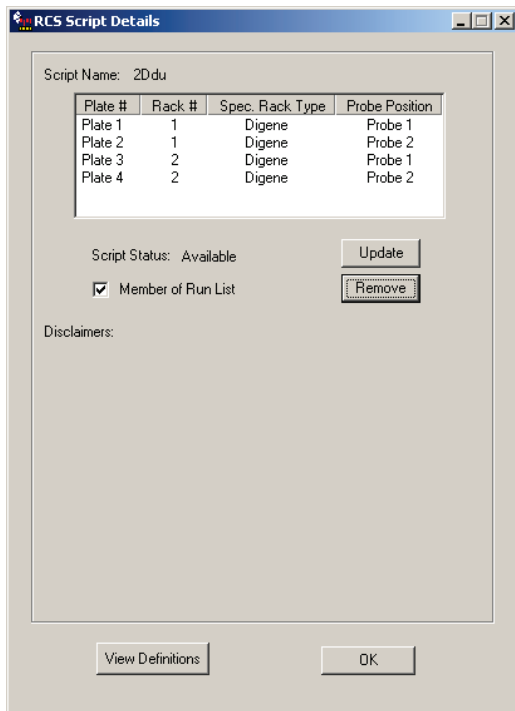
"**Member of Run List**" (Membro da lista de execução) permite a ativação e a customização do menu de disponibilidade de scripts do Rapid Capture System Software.



A caixa de seleção ao lado de "**Member of Run List**" indica o status do script dentro do Rapid Capture System e se o script está incluído na "**Script Menu List**" (Lista do menu de scripts). Se a caixa estiver selecionada, o script é indicado na lista de script do Rapid Capture System. Se a caixa não estiver selecionada, o script não está disponível na lista de execução do Rapid Capture System.

O script pode ser adicionado ao menu de script do Rapid Capture System ao clicar no botão "**Select**". A opção "Select" não estará disponível se "**Script Status**" (Status do script) for "**Locked**".

Os scripts que estiverem listados no menu de scripts do Rapid Capture System Software e não forem necessários para o usuário podem ser removidos da lista de execução ao selecionar o nome do script e clicar no botão **"Remove"**.



## Status do script

Os scripts são definidos no Rapid Capture System como "Available for use" (Disponível para uso) ou como "Locked".

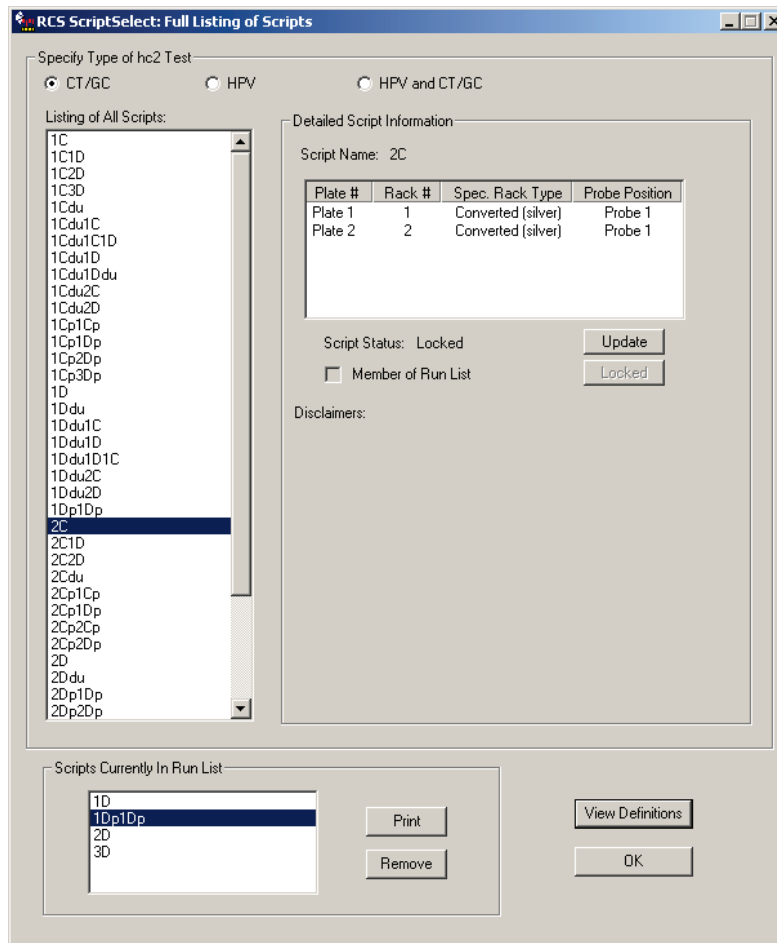
- "Script Status: Available" (Status do script: Disponível) indica que o script pode ser adicionado à lista de execução.
- "Script Status: Locked" (Status do script: Bloqueado) indica que o script não pode ser adicionado à lista de execução e não está disponível para uso.

# Scripts bloqueados/ Desbloqueio de scripts

Os scripts são disponibilizados para uso no Rapid Capture System após a aprovação do script específico para um *digene* HC2 DNA Test e o tipo de amostra. Os avisos legais definem com mais precisão outros *digene* HC2 DNA Tests que podem não estar aprovados ainda para uso no Rapid Capture System.

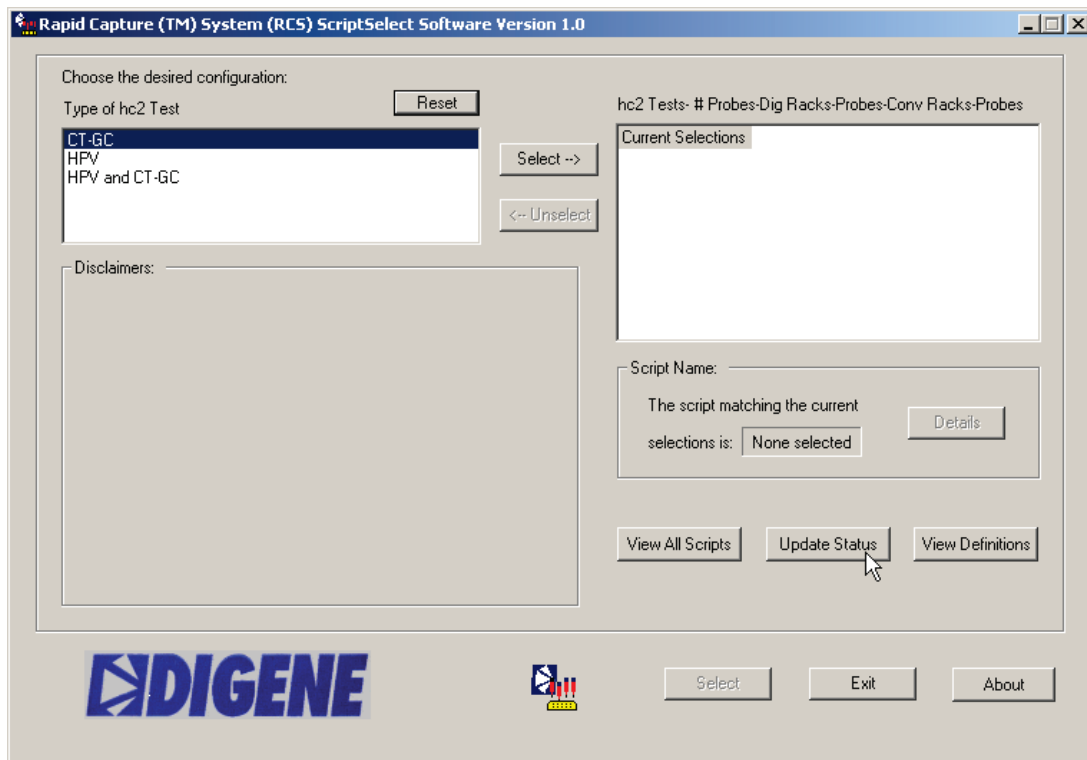
## Opção 1

Se um script não estiver disponível no momento para ativação, o botão "Select" é designado como "Locked" e exibido em cinza, e o botão "Update" (Atualizar) é ativado.

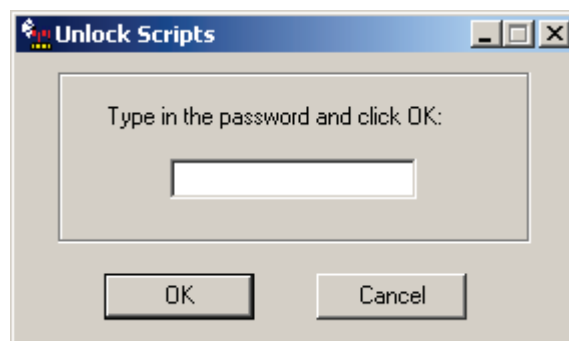


## Opção 2

Os scripts também podem ser desbloqueados na janela principal usando o botão **"Update Status"** (Atualizar status).

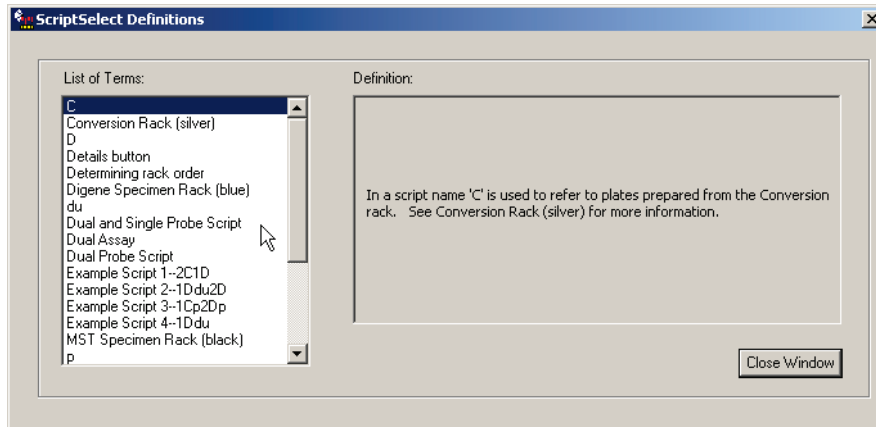


Digite a senha fornecida pela QIAGEN e clique em "OK".



# BOTÃO VIEW DEFINITIONS

Ao clicar no botão **"View Definitions"** (Exibir Definições), a janela **"ScriptSelect Definitions"** (Definições do ScriptSelect) é exibida.



Selecione o termo desejado no painel esquerdo para exibir as definições à direita. Uma lista completa das definições do ScriptSelect é apresentada abaixo.

## Definições de script

Termos de script do Rapid Capture	Definição
<i>digene</i> Specimen Rack (azul)	Refere-se ao rack de amostras azul usado para amostras coletadas no Specimen Transport Medium, STM. Esse rack pode ser usado para ensaios de sonda única ou de sonda dupla.
Conversion Rack (silver) (Rack de conversão (prata))	Refere-se ao rack de amostras prata usado para as amostras convertidas de Hologic PreservCyt® Solution. Essas amostras exigem processamento antes de serem convertidas para uso com as amostras do <i>digene</i> HC2 High-Risk HPV DNA Test.
Dual Assay (Ensaio duplo)	Um ensaio duplo se refere a um teste em que um rack de amostras é distribuído a duas placas diferentes. Cada placa é testada, então, com uma sonda diferente. Veja o Example Script 4 para mais esclarecimentos.
Single-Probe Script (Script com sonda única)	"Single-Probe Script" indica que todos os racks são testados com a mesma sonda, localizada na posição da sonda 1 do reservatório da plataforma do Rapid Capture System. A terminologia "Single-Probe Script" é reproduzida na impressão gerada no início de uma execução do RCS. Veja o Example Script 1 para mais esclarecimentos.
Two-Probe Script (Script com duas sondas)	"Two-Probe Script" indica que cada rack testado gera resultados usando uma sonda diferente. Várias sondas são usadas para vários racks, mas cada rack é testado apenas com uma sonda. A terminologia "Two-Probe Script" encontra-se na impressão gerada no início da execução do Rapid Capture System e define a seleção da sonda e do script usados em uma execução específica do Rapid Capture System. Veja o Example Script 3 para mais esclarecimentos.
Dual-Probe Script (Script com sonda dupla)	"Dual-Probe Script" indica que um rack de amostras distribuído em duas placas é testado com duas sondas diferentes. A terminologia "Dual-Probe Script" é incluída na impressão de confirmação do Rapid Capture System gerada no início da execução do Rapid Capture System. Veja a definição de Dual Assay e Example Script 4 para mais informações.
Dual- and Single-Probe Script (Script com sonda dupla e única)	A terminologia "Dual- and Single-Probe Script" apresentada na impressão gerada no início da execução do RCS indica que o RCS executará um ensaio com sonda dupla e um ensaio com sonda única. O ensaio duplo é sempre executado primeiro pelo RCS. O ensaio duplo permite que um rack de amostras seja testado em duas placas com o uso da sonda das posições 1 e 2 do reservatório. Os demais racks são testados com o uso da sonda da posição 3 do reservatório. Veja Example Script 2 e Dual Assay para mais informações.
C	No nome de um script, "C" é usado para designar placas preparadas do Conversion rack. Veja a definição do Conversion Rack (prata) para mais informações.
D	No nome de um script, "D" é usado para designar placas preparadas do <i>digene</i> Specimen Rack. Veja <i>digene</i> Specimen Rack (azul) ou MST Specimen Rack (preto) para mais informações.
du	"du" é usado em nomes de script para indicar um ensaio duplo. Veja Dual Assay para mais informações.
p	O "p" é usado como sufixo em nomes de script para indicar o uso de uma sonda diferente. "p" é usado em nomes de script para indicar vários ensaios de sonda única. Por exemplo: o script 2Dp1Dp indica que dois <i>digene</i> Specimen Racks estão sendo executados com o uso da solução da sonda da posição da sonda 1 do reservatório na plataforma do Rapid Capture System, e um terceiro <i>digene</i> Specimen Rack é testado com o uso da sonda 2 da posição da sonda 2 do reservatório na plataforma do Rapid Capture System. É diferente de um script com sonda dupla, em que um rack de amostras é testado com o uso de 2 sondas. Veja o Example Script 3 para mais informações.



Termos de script do Rapid Capture	Definição
Probe 1 (Sonda 1)	"Probe 1" refere-se à solução da sonda localizada na posição da sonda 1 do reservatório da plataforma do Rapid Capture System.
Probe 2 (Sonda 2)	"Probe 2" refere-se à solução da sonda localizada na posição da sonda 2 do reservatório da plataforma do Rapid Capture System.
Probe 3 (Sonda 2)	"Probe 3" refere-se à solução da sonda localizada na posição da sonda 3 do reservatório da plataforma do Rapid Capture System.
Run List (Lista de execução)	A lista de scripts disponíveis atualmente no Rapid Capture System Software. Os scripts podem ser adicionados ou removidos da lista de execução do Rapid Capture System com o uso do ScriptSelect Software. Somente os scripts presentes na lista de execução podem ser usados no Rapid Capture Software.
Example Script 1-2C1D (Exemplo de script)	2C1D: Define um script com três racks/ três placas. Este ensaio utiliza apenas uma sonda, localizada na posição da sonda 1 do reservatório. O 2C define o uso de dois racks de conversão (prata) para as placas 1 e 2. O 1D indica o uso de um <i>digene</i> Specimen Rack para a placa 3. Todas as amostras são testadas com o uso da sonda da posição 1 do reservatório. Este é um script de sonda única.
Example Script 2-1Ddu2D (Exemplo de script)	1Ddu2D: Define um script com três racks/ quatro placas. O 1Ddu (1 duplo <i>digene</i> ) indica o uso de um <i>digene</i> Specimen Rack (azul) na execução de duas placas de uma amostra. A sonda da placa 1 está localizada na posição da sonda 1 do reservatório, e a sonda da placa 2 está localizada na posição da sonda 2 do reservatório. O 2D (dois <i>digene</i> Specimen Racks testados com uma sonda única) refere-se a dois <i>digene</i> Specimen Racks adicionais testados nas placas 3 e 4 com o uso da sonda da posição da sonda 3 do reservatório. Este é um script de sonda dupla e única.
Example Script 3-1Cp2Dp (Exemplo de script)	1Cp2Dp: Define um script com três racks/ três placas. O 1Cp indica que um Conversion Rack (prata) é usado na execução de um ensaio na placa 1 com a sonda na posição da sonda 1 do reservatório. O 2Dp especifica o uso de dois <i>digene</i> Specimen Racks. A sonda localizada na posição da sonda 2 do reservatório é usada para testar cada <i>digene</i> Specimen Rack nas placas 2 e 3. Consulte a definição do "p". Este é um script de duas sondas.
Example Script 4-1Ddu (Exemplo de script)	1Ddu: Define um script com um rack/ duas placas. O 1Ddu (1 duplo <i>digene</i> ) indica o uso de um <i>digene</i> Specimen Rack (azul) na execução de duas placas de uma amostra. A sonda da placa 1 está localizada na posição da sonda 1 do reservatório, e a sonda da placa 2 está localizada na posição da sonda 2 do reservatório. Este é um script de sonda dupla.
Botão Update (Atualizar)	O botão Update é um recurso utilitário do ScriptSelect Software que permite o uso ampliado do RCS. Ao digitar a senha especificada pela QIAGEN, novas permissões serão concedidas para aplicações ampliadas do RCS. A QIAGEN distribuirá senhas à medida que as novas aprovações forem obtidas.
Determining rack order (Definição da ordem dos racks)	A ordem correta dos racks sempre é indicada pelo "script name" (nome do script). Em geral, se houver um ensaio duplo, o rack desse ensaio é o primeiro, seguido de outros racks do mesmo tipo de amostra. Se o script não precisar de um ensaio duplo, os racks de conversão sempre serão os primeiros, seguidos pelos <i>digene</i> Specimen Racks.
Script (Script)	Conjunto de instruções que o Rapid Capture System utiliza para realizar um ensaio ou uma série de ensaios.
Botão Details (Detalhes)	Ao clicar no botão "Details", abre-se uma janela que exibe a configuração de placa, rack e sonda de um script específico.
Botão Select (Selecionar)	Ao clicar no botão "Select", o script é adicionado automaticamente à lista de execução do Rapid Capture.

---

# CT/GC, CT-ID e GC-ID

## Procedimentos de aplicação

### Reagentes necessários e diretrizes

#### Reagentes necessários:

- Hybrid Capture 2 (*digene* HC2) CT/GC DNA Test, *digene* HC2 CT-ID DNA Test, *digene* HC2 GC-ID DNA Test ou kit *digene* HC2 CT-GC Dual ID
- *digene* HC2 DNA Collection Device: Uma escova cervical e um tubo contendo 1 ml de Meio de transporte de amostras (STM).
- Hybrid Capture (HC) Female Swab Specimen Collection Kit (2 swabs e um tubo contendo 1 ml de STM)

#### Diretrizes para os reagentes de teste do Rapid Capture System:

Vários *digene* HC2 DNA Tests podem ser realizados no Rapid Capture System com o uso de diretrizes de *digene* HC2 DNA Tests múltiplos. É necessário combinar componentes de várias caixas de kits do mesmo número de lote para oferecer os volumes de reagentes necessários para o processamento de mais de uma placa completa de amostras para um ensaio de sonda única. Use o kit *digene* HC2 CT-GC Dual ID para realizar *digene* HC2 Tests múltiplos no Rapid Capture System. Somente o kit *digene* HC2 CT-GC Dual ID é qualificado para essa aplicação. Consulte as instruções de testes *digene* HC2 múltiplos contidas no suplemento às Instruções de Uso do kit *digene* HC2 CT-GC Dual ID. Consulte as Instruções de Uso do *digene* HC2 DNA Test específico a respeito das restrições de uso de lotes.

## Preparação e armazenamento do reagente

<p><b>Reagente de desnaturação de CT/GC, CT-ID ou GC-ID</b></p>	<p>PREPARE PRIMEIRO:</p> <p>Adicione cinco gotas de corante indicador em cada recipiente de reagente de desnaturação e misture bem. Não é necessário combinar recipientes de reagente de desnaturação. O reagente de desnaturação deve apresentar uma cor púrpura-escuro uniforme. Depois de preparado, o reagente de desnaturação permanece estável por três meses quando armazenado a 2-8°C. Rotule-o com a nova data de validade. Se a cor desbotar, adicione mais três gotas de corante indicador e misture bem antes de usar.</p> <p><b>Aviso:</b> O reagente de desnaturação é corrosivo. Use roupas de proteção, luvas e proteção para os olhos/face adequadas. Tenha cuidado ao manuseá-lo.</p>																								
<p><b>Mistura de sonda de CT/GC, CT ou GC (Preparado a partir de reagentes de sonda para CT/GC, CT ou GC e de diluentes de sonda)</b></p> <p>(Preparar uma solução fresca todos os dias)</p>	<p><b>IMPORTANTE: ÀS VEZES, A SONDA FICA PRESA NA TAMPA DO FRASCO.</b></p> <p><b>Nota:</b> Tome muito cuidado nesta etapa para evitar a contaminação da sonda e da mistura de sonda por RNase. Use pontas de pipeta com barreira contra aerossol para a pipetar a sonda. O diluente da sonda é viscoso. <b>Tome cuidado para garantir uma boa homogeneização ao preparar a mistura de sonda. Deve-se formar um vórtex visível no líquido durante a etapa de homogeneização. A homogeneização incompleta pode resultar em redução do sinal.</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Centrifugue cada frasco de sonda para CT/GC, CT ou GC rapidamente para levar o líquido para o fundo do frasco. Bata de leve no tubo para misturar.</li> <li>Defina a quantidade de mistura de sonda necessária com base na tabela abaixo. É necessária uma quantidade extra de mistura de sonda para contabilizar o volume morto necessário nos reservatórios de reagentes no Rapid Capture System, a qual está incluída na tabela. O menor número de poços recomendado para cada uso é 96 ou uma microplaca.</li> <li>Transfira a quantidade necessária de diluente de sonda para um tubo cônico de polipropileno para acomodar o volume de mistura de sonda. Faça uma diluição de 1:25 de sonda no diluente de sonda para preparar a mistura de sonda usando a tabela abaixo.</li> </ul> <table border="1" data-bbox="483 1108 1170 1354"> <thead> <tr> <th>Nº de placas</th> <th>Volume de diluente de sonda*</th> <th>Volume de sonda*</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>≤ 1 **</td> <td>5,0 ml</td> <td>200 µl</td> </tr> <tr> <td>≤ 1,5</td> <td>6,0 ml</td> <td>240 µl</td> </tr> <tr> <td>≤ 2</td> <td>8,0 ml</td> <td>320 µl</td> </tr> <tr> <td>≤ 2,5</td> <td>9,0 ml</td> <td>360 µl</td> </tr> <tr> <td>≤ 3</td> <td>10,0 ml</td> <td>400 µl</td> </tr> <tr> <td>≤ 3,5</td> <td>12,0 ml</td> <td>480 µl</td> </tr> <tr> <td>≤ 4</td> <td>13,0 ml</td> <td>520 µl</td> </tr> </tbody> </table> <p>* Esses valores incluem o volume extra recomendado necessário para preencher o volume morto dos reservatórios de reagentes.</p> <p>**</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Reúna a sonda de cada frasco individual do mesmo número de lote do kit em um único frasco de sonda e misture por pipetagem. Meça a sonda e distribua no diluente de sonda colocando uma ponteira de pipetagem contra a parede interna do tubo, logo acima do menisco, e vertendo o conteúdo. <b>Não mergulhe a ponteira no diluente de sonda. Não misture números de lotes diferentes de sonda ou de diluente de sonda.</b></li> <li>Centrifugue por pelo menos 5 segundos à velocidade máxima, para misturar completamente. <b>Nota: Deve-se formar um vórtex visível no líquido durante a etapa de homogeneização. A homogeneização incompleta pode resultar em redução do sinal.</b></li> <li>Etiquete como mistura de sonda para CT/GC, CT ou GC e guarde em um recipiente limpo e fechado até estar pronto para uso. Descarte a mistura de sonda não utilizada. Não guarde a sonda para uso posterior. Prepare sonda fresca para o dia em que for usar.</li> <li>Para execuções do Rapid Capture System que usarem mais de 1 tipo de sonda, prepare cada tipo de sonda em um tubo cônico de polipropileno separado, conforme descrito acima, e rotule adequadamente.</li> <li>Podem ser utilizados no máximo três tipos de sonda em um ensaio do Rapid Capture System.</li> </ul> <p><b>Cuidado: O diluente de sonda pode causar irritação ocular reversível. Use proteção para os olhos/face.</b></p>	Nº de placas	Volume de diluente de sonda*	Volume de sonda*	≤ 1 **	5,0 ml	200 µl	≤ 1,5	6,0 ml	240 µl	≤ 2	8,0 ml	320 µl	≤ 2,5	9,0 ml	360 µl	≤ 3	10,0 ml	400 µl	≤ 3,5	12,0 ml	480 µl	≤ 4	13,0 ml	520 µl
Nº de placas	Volume de diluente de sonda*	Volume de sonda*																							
≤ 1 **	5,0 ml	200 µl																							
≤ 1,5	6,0 ml	240 µl																							
≤ 2	8,0 ml	320 µl																							
≤ 2,5	9,0 ml	360 µl																							
≤ 3	10,0 ml	400 µl																							
≤ 3,5	12,0 ml	480 µl																							
≤ 4	13,0 ml	520 µl																							

<b>Tampão de lavagem</b>	Para o Rapid Capture System, o tampão de lavagem pode ser preparado conforme a descrição abaixo e armazenado no recipiente de lavagem a 20-25°C. Consulte a tabela abaixo para misturar os volumes:			
	<u>Nº de placas</u>	<u>Quantidade de concentrado de tampão de lavagem</u>	<u>Quantidade de água desionizada ou destilada</u>	<u>Volume final de 1 X Tampão de lavagem*</u>
	≤ 2	100 ml	2,9 L	3 l
	> 2	200 ml	5,8 L	6 l
	<b>*Esses valores incluem o volume extra recomendado necessário para preencher o volume morto de 300 ml do recipiente.</b>			
	<b>Nota:</b> O tampão de lavagem preparado permanece estável por três meses a 2-30°C. Rotule com a nova data de validade. Se o tampão de lavagem tiver sido refrigerado, equilibre a 20-25°C antes de usar			
	<b>Aviso:</b> O concentrado de tampão de lavagem é tóxico, se ingerido. Use roupas de proteção, luvas e proteção para os olhos/face adequadas. Para minimizar a exposição, adicione água ao concentrado de tampão de lavagem na preparação.			

### Volumes para reagentes prontos para uso

<b>Reagente de detecção 1 e Reagente de detecção 2</b>	Defina o volume do Reagente de detecção 1 ou do Reagente de detecção 2 necessário para a execução. O volume mínimo de execução é de uma placa. Para uma placa inteira mais placas parciais, use os volumes indicados na tabela abaixo.	
	Misture bem os recipientes de reagentes individuais, em seguida combine o volume apropriado do Reagente de detecção 1 ou do Reagente de detecção 2 em um tubo cônico de polipropileno de 50 ml descartável limpo. Misture completamente. Verta todo o conteúdo no reservatório de reagente designado. Para evitar contaminação, esses reagentes <b>não devem</b> ser devolvidos aos recipientes originais. <b>Descarte o material não utilizado após o uso.</b>	
	<u>Nº de placas</u>	<u>Volume mínimo dos Reagentes de detecção 1 e 2</u>
	≤ 1	10 ml
	≤ 1,5	14 ml
	≤ 2	18 ml
	≤ 2,5	22 ml
	≤ 3	26 ml
	≤ 3,5	30 ml
	≤ 4	34 ml
	<b>Nota: Somente combine reagentes do mesmo número de lote.</b>	

# Preparação de amostras e racks

## Preparação de amostras para transferência no Rapid Capture System

### Multi-Specimen Tube Vortexer 2 e racks

O Multi-Specimen Tube (MST) Vortexer 2 do rack de amostras adequado e sua tampa correspondente e os componentes acessórios são necessários para a preparação, o processamento e a desnaturação das amostras. Estão disponíveis dois modelos de rack de amostras para os *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID DNA Tests. Os racks de amostras permitem que o laboratório customize os testes. Os nomes e a aplicação dos racks são apresentados na tabela abaixo. Os racks de amostras são codificados por cor para diferenciar os modelos de rack.

Nome da amostra do rack	Cor do rack Chave	Tipo de acomodações do Specimen Rack	Scripts aceitáveis do Rapid Capture System
<i>digene</i> Specimen Rack	Azul	Amostras coletadas no STM, incluindo o <i>digene</i> HC2 DNA Collection Device e o HC Female Swab Specimen Collection Kit.	Ensaio de sonda única Ensaio de sonda dupla Ensaio de duas sondas

**As amostras podem conter agentes infecciosos e devem ser manuseadas adequadamente.**

#### Notas

- A aplicação do Rapid Capture System para os *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID DNA Tests é aprovada para amostras coletadas no Meio de transporte de amostras.
- A desnaturação das amostras é realizada off-line.
- Defina o rack adequado necessário para a desnaturação antes de colocar amostras no rack apropriado. Ao testar amostras com duas sondas, use o *digene* Specimen Rack (azul). Este é um ensaio de sonda dupla do Rapid Capture System.

1. Remova as amostras e todos os reagentes necessários do refrigerador antes de iniciar o ensaio. Aguarde até que eles se equilibrem com a temperatura ambiente (20-25°C).
2. Etiquete cada *digene* Specimen Rack (azul) e tampa correspondente com um número de 1 a 4. Certifique-se de usar uma etiqueta e um marcador que não saiam no banho-maria de 65°C (consulte a seção Materiais necessários na seção Descrição da aplicação do Rapid Capture System deste manual do usuário).

**Notas:**

- Cada *digene* Specimen Rack (azul) é seriado. O número de série é gravado no rack e na tampa. Os números de cada rack e tampa devem coincidir. Coloque etiquetas adequadas.
- Até quatro racks de 88 amostras cada podem ser testados por execução do Rapid Capture System. Para ensaios de sonda única, os *digene* Specimen Racks são etiquetados de 1 a 4 e devem ser preenchidos e carregados no Rapid Capture System nessa ordem. Lembre-se de incluir o calibrador e os controles do kit com cada rack.
- Quando um script de sonda dupla é executado no Rapid Capture System, as amostras no *digene* Specimen Rack (azul) são distribuídas de maneira consecutiva em duas placas. O *digene* Specimen Rack é usado para executar um script de sonda dupla. Nesse caso, o rack é usado para duas transferências de amostras. O rack é reconhecido como rack pelo Rapid Capture System Software. Portanto, ao executar um ensaio de sonda dupla, o número máximo de racks que o Rapid Capture System pode acomodar é três. Um rack para duas transferências de placa (script de sonda dupla) e mais dois racks para uma única transferência de placa.
- Os scripts de sonda dupla exigem a inclusão de dois calibradores positivos no *digene* Specimen Rack. Coloque o calibrador positivo 1 a ser usado com a sonda na posição da sonda 1 do reservatório na posição D1 do rack. Coloque o calibrador positivo 2 a ser usado com a sonda na posição da sonda 2 do reservatório na posição E1 do rack.

3. Use o sistema de software *digene* HC2 para inserir os IDs de amostras e criar layouts de placas para cada rack de amostras. (Consulte o *digene* HC2 System Software User Manual para obter instruções.) **É fundamental que os nomes dos arquivos de disposição de placas de amostras sejam associados ao rack de amostras correspondente.**

**Nota:** Use o sistema de software *digene* HC2 para criar o modelo de controle/calibrador/amostra para simular a ordem do rack de amostras. Consulte o *digene* HC2 System Software User Manual para obter informações mais detalhadas.

4. Remova e descarte as tampas do controle negativo, do calibrador positivo, dos controles de qualidade e das amostras a serem testadas e coloque os tubos no rack de amostras adequado, como determinado abaixo.

**Nota:** As tampas removidas dos tubos de amostras são consideradas potencialmente infecciosas. Descarte o material infeccioso de acordo com as regulamentações locais, estaduais e federais.

- 4a. **Os calibradores negativo e positivo e os controles de qualidade são necessários para cada rack de amostras a ser testado. O Rapid Capture System distribui o calibrador negativo e o calibrador positivo em triplicata na primeira coluna de cada placa de amostras testada.** Os controles de qualidade e as amostras são testados individualmente.

- 4b. Para um *digene* Specimen Rack (azul) testado com uma sonda, coloque o **calibrador** negativo (Negative Calibrator, NC) na posição A1, e o calibrador positivo (Positive Calibrator, PC) na D1 do rack. Coloque o controle de qualidade CT (QC CT) na posição G1, e o controle de qualidade GC (QC GC) na H1 do rack. Controles, calibradores e amostras são executados em uma configuração de coluna de 8 micropoços. O Rapid Capture System pipeta automaticamente o **calibrador** negativo e o calibrador positivo em triplicata dos tubos únicos no *digene* Specimen Rack. (Os locais descritos na frase a seguir se referem a locais em uma microplaca, e não em um rack agitador.) As réplicas do **calibrador** negativo estão no A1, B1, C1; o calibrador positivo (PC), no D1, E1, F1; o QC CT, no G1; e o QC GC, no H1. Coloque as amostras a partir de A2. **Veja o Exemplo 1 de disposição do rack.**
- 4c. Para um *digene* Specimen Rack (azul) testado com a sonda 1 e a sonda 2 (ensaio de sonda dupla), coloque o **calibrador** negativo (NC) na posição A1, o calibrador positivo 1 (PC1), na D1, e o calibrador positivo 2 (PC2), na E1 do *digene* Specimen Rack. Coloque o controle de qualidade CT (QC CT) na posição G1, e o controle de qualidade GC (QC GC) na H1 do *digene* Specimen Rack. Primeiro, o Rapid Capture System distribui o controle negativo, o calibrador positivo 1, os controles de qualidade e as amostras testadas com a sonda 1. Em seguida, o Rapid Capture System distribui todo o rack novamente usando o **calibrador** negativo, o calibrador positivo 2, os controles de qualidade e as amostras testadas com a sonda 2. (Os locais descritos na frase a seguir se referem a locais em uma microplaca, e não em um rack agitador.) O Rapid Capture System pipeta automaticamente o **calibrador** negativo e o calibrador positivo em triplicata, e os controles de qualidade uma vez, a partir dos tubos únicos no *digene* Specimen Rack, de modo que as réplicas do **calibrador** negativo (NC) fiquem nas posições A1, B1, C1; o calibrador positivo (PC1 ou PC2) nas posições D1, E1, F1; o QC CT na G1; e o QC GC na H1, com as amostras a partir de A2 para cada placa a ser testada. **Veja o Exemplo 2 de disposição do rack.**
5. Siga para a seção Desnaturação das amostras do *digene* HC2 DNA Collection Device, controles e calibradores do kit depois que as amostras forem colocadas no rack apropriado e as disposições de placa forem criadas.

**Nota:** O sistema de software *digene* HC2 reporta os resultados de controles e calibradores com base em sua localização na placa para verificar a execução do ensaio. Para obter resultados válidos, é essencial posicionar os controles e calibradores corretamente no MST Rack ou no *digene* Specimen Rack e usar o protocolo de ensaio adequado.

**EXEMPLO 1: DISPOSIÇÃO DO *digene* SPECIMEN RACK (AZUL) COM SONDA ÚNICA PARA OS PRIMEIROS 24 MICROPÓÇOS**

Linha	Coluna		
	1	2	3
A	NC	Amostra 1	Amostra 9
B		Amostra 2	Amostra 10
C		Amostra 3	Amostra 11
D	CP	Amostra 4	Amostra 12
E	Vazio	Amostra 5	Amostra 13
F		Amostra 6	Amostra 14
G	QC CT	Amostra 7	Amostra 15
H	QC GC	Amostra 8	Amostra 16

O *digene* Specimen Rack foi projetado para emular uma placa de 96 poços.

A coluna 1 do *digene* Specimen Rack foi projetada com cinco cavidades para o **calibrador** negativo, o calibrador positivo e os controles de qualidade.

O script de sonda única pode ser executado usando esse tipo de rack.

As 11 colunas restantes podem acomodar até 88 amostras.

## EXEMPLO 2: DISPOSIÇÃO DO digene SPECIMEN RACK (AZUL) COM SONDA DUPLA PARA OS PRIMEIROS 24 MICROPOÇOS

Linha	Coluna		
	1	2	3
A	NC	Amostra 1	Amostra 9
B		Amostra 2	Amostra 10
C		Amostra 3	Amostra 11
D	PC1	Amostra 4	Amostra 12
E	PC2	Amostra 5	Amostra 13
F		Amostra 6	Amostra 14
G	QC CT	Amostra 7	Amostra 15
H	QC GC	Amostra 8	Amostra 16

O digene Specimen Rack foi projetado para emular uma placa de 96 poços.

A coluna 1 do digene Specimen Rack foi projetada com cinco cavidades para o **calibrador** negativo, o calibrador positivo 1 (PC1), o calibrador positivo 2 (PC2) e dois controles de qualidade.

O script de sonda dupla pode ser executado usando esse tipo de rack.

As 11 colunas restantes podem acomodar até 88 amostras.

## Desnaturação de controles, calibradores E AMOSTRAS DO KIT

### Notas:

- **Aviso:** O reagente de desnaturação é corrosivo. Use roupas de proteção, luvas e proteção para os olhos/face adequadas. Tenha cuidado ao manuseá-lo. Dilua o restante do reagente de desnaturação no recipiente antes de descartá-lo. Descarte o material corrosivo de acordo com as regulamentações locais, estaduais e federais
- **Importante:** Algumas amostras podem conter sangue ou outro material biológico que pode ocultar as alterações de cor após a adição do reagente de desnaturação e da mistura de sonda. As amostras que apresentarem uma cor escura antes da adição do reagente de desnaturação podem não exibir as alterações de cor adequadas nessas etapas. Nesses casos, a falha em exibir a mudança de cor adequada não afetarão os resultados do ensaio. Pode-se confirmar se houve uma homogeneização adequada ao observar as alterações de cor dos calibradores e controles
- Não remova o dispositivo de coleta de amostras antes da desnaturação.
- Durante a etapa de desnaturação, confirme se o nível da água no banho-maria está adequado para submergir todo o volume de amostras no tubo.
- As amostras podem ser preparadas até a etapa de desnaturação e armazenadas a 2-8°C de um dia para o outro ou a -20°C por até 3 meses. Um máximo de três ciclos de congelamento/descongelamento pode ser realizado com um máximo de duas horas à temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelamento. Misture bem antes de usar.
- Para evitar resultados falso-positivos, é fundamental que todo o material dos controles, calibradores e amostras entre em contato com o reagente de desnaturação. A homogeneização após a adição do reagente de desnaturação é uma etapa imprescindível. **Certifique-se de que o MST Vortexer 2 esteja na configuração 100 (velocidade máxima) e de que o botão Pulser (Pulsar) esteja desligado.**
- Após a desnaturação e a incubação, as amostras não devem mais ser consideradas infecciosas. No entanto, a equipe do laboratório ainda deve seguir as precauções universais.



1. Pipete o reagente de desnaturação com o corante indicador em cada controle, calibrador ou amostra usando um pipetador ajustável ou de repetição. Tome cuidado para não tocar as laterais do tubo para evitar a contaminação cruzada de amostras. O volume de reagente de desnaturação necessário equivale a metade do volume da amostra. O volume exato de cada tipo de controle, calibrador e amostra é apresentado na tabela abaixo.

Controle, calibrador ou amostra	Volume de reagente de desnaturação necessário
Calibrador negativo, 2 ml	1000 µl
Calibrador positivo e controles de qualidade, 1 ml	500 µl
Amostra cervical, 1 ml	500 µl

**Nota:** Os usuários devem preparar soluções frescas de **calibrador** negativo, calibrador positivo e controles de qualidade para cada execução. Os controles e calibradores podem ser preparados até a etapa de desnaturação e armazenados a 2-8°C de um dia para o outro, **mas não podem ser congelados**. Todo o volume do **calibrador** negativo, do calibrador positivo e dos controles de qualidade deve ser desnaturado para os testes com a aplicação do Rapid Capture System.

2. Misture as amostras usando o MST Vortexer 2.
  - 2a. Cubra os tubos de controle/calibrador/amostra com filme DuraSeal™, esticando-o sobre os tubos no rack.
  - 2b. Coloque a tampa do rack sobre os tubos cobertos por filme e trave-o no lugar com duas braçadeiras laterais. Corte o filme com o dispositivo de corte.
  - 2c. Coloque o rack no MST Vortexer 2 na direção correta e prenda o rack com o fixador. Confirme se a velocidade está configurada como 100 (velocidade máxima) e coloque o interruptor de energia do agitador na posição ligada. Agite os tubos por 10 segundos. Os controles, calibradores e amostras devem adquirir uma coloração púrpura.
3. Incube os tubos em cada rack em banho-maria a 65°C ± 2°C por 45 ± 5 minutos (os controles, calibradores e amostras desnaturados podem ser testados imediatamente ou armazenados conforme a descrição nas Notas acima).
4. Prepare os reagentes e a plataforma do Rapid Capture System durante a incubação para desnaturação das amostras.

# Preparação da plataforma do Rapid Capture System



Enxágue com água desionizada ou destilada antes do primeiro uso a cada dia, executando o script "FLUSH" depois de inicializar o sistema. Falha ao concluir uma lavagem do sistema pode resultar em volumes de alíquotas distribuídos.

## Notas:

- Use luvas descartáveis e sem pó durante a preparação.
- Consulte a seção *Procedimento de aplicação do Rapid Capture ScriptSelect* deste manual do usuário para ajudar na escolha do script correto para a execução específica do RCS. O ScriptSelect Software permite que o usuário selecione o script adequado e o adicione à lista de execução do RCS.
- Use a impressão do RCS ScriptSelect após a seleção do script para ajudar na preparação da plataforma.

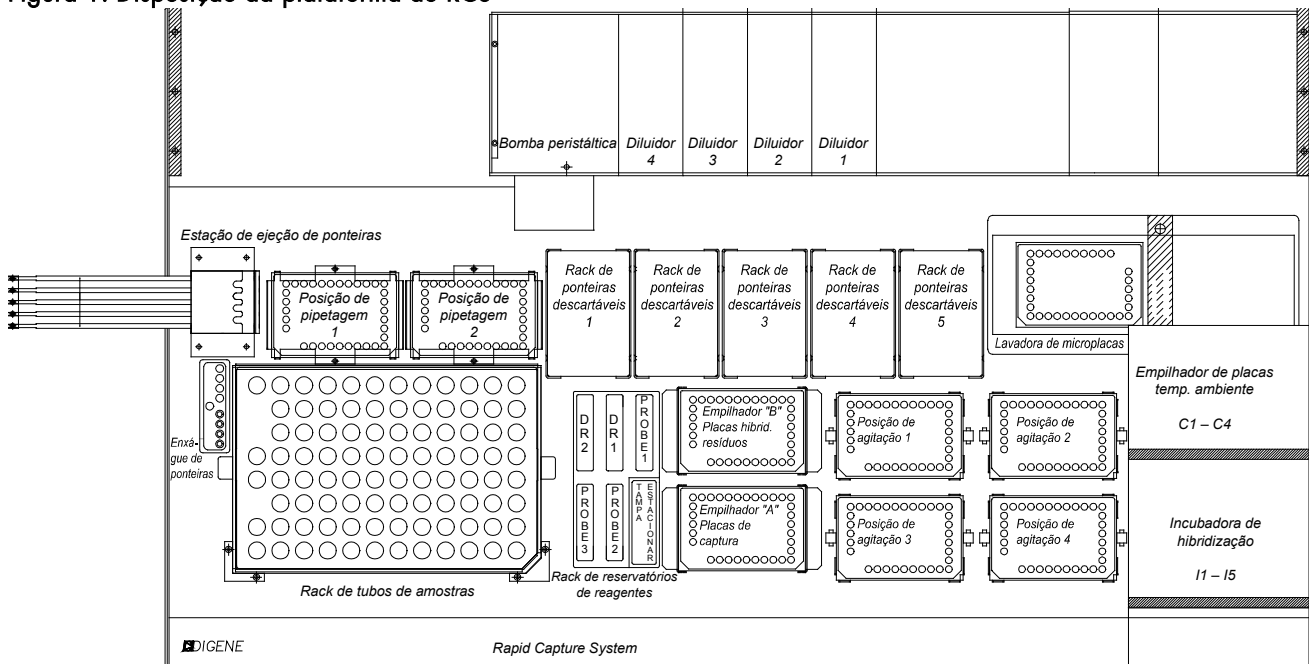
## Cada rack de 88 amostras a ser testado com o *digene* HC2 DNA Test exige:

- Um kit *digene* HC2 DNA Test
- Uma placa de hibridização
- Uma tampa para placa
- 204 ponteiros descartáveis (dois racks e 12 ponteiros)
- Será necessária uma tampa para placa adicional para cada execução, independentemente do número de racks de amostras a serem testados.

## A realização de testes com um rack de 88 amostras com um ensaio de sonda dupla exige:

- Dois kits *digene* HC2 DNA Test
- Duas placas de hibridização
- Duas tampas para placa
- 408 ponteiros descartáveis (4 racks e 24 ponteiros)
- Será necessária uma tampa para placa adicional para cada execução, independentemente do número de racks de amostras a serem testados.

Figura 1: Disposição da plataforma do RCS



## Preparação da plataforma

1. Inspeção a plataforma, incluindo todos os empilhadores e incubadoras, e remova placas, tampas ou outros itens diversos. Se a execução anterior tiver sido interrompida, inspecione a incubadora de 65°C abrindo manualmente a porta de cada câmara com o uso de uma ponteira de pipeta descartável. Se forem encontradas placas, entre em contato com o representante local de serviços técnicos da QIAGEN para obter instruções. **Se todos esses itens não forem retirados, eles podem travar o instrumento e danificá-lo.**



**Cuidado:** A incubadora de hibridização atinge uma temperatura programada de 65°C.

2. Com o uso de luvas descartáveis e sem pó, preencha os 5 suportes de rack de ponteiras descartáveis (DT) com os racks. **Ao carregar as ponteiras, o entalhe em "U" do rack deve ser posicionado na parte frontal esquerda do suporte.** O rack deve ficar bem encaixado. Se isso não acontecer, remova o rack de ponteiras e puxe as abas centrais nas extremidades frontal e traseira do suporte na direção do centro para aumentar a tensão no rack. Recoloque o rack de ponteiras. Se os racks de ponteiras descartáveis não forem carregados, um alarme sonoro e uma caixa de diálogo serão exibidos indicando a necessidade de carregar as ponteiras.
3. Etiquete a superfície frontal das placas de hibridização (hyb) de 1 a 4. Coloque uma tampa em cada placa.

**Nota:** Se forem utilizadas várias sondas na execução do RCS, recomenda-se numerar as placas de hibridização e as tampas e etiquetá-las com o tipo de sonda a ser distribuído na placa.

4. Coloque as placas de hibridização com as tampas nos agitadores nas posições correspondentes identificadas, de S1 a S4. Certifique-se de que as placas estejam na direção correta e **encaixadas nas guias** (consulte Disposição da plataforma do RCS, Figura 1).
5. Etiquete a superfície frontal das placas de captura com números de 1 a 4, de modo que correspondam às placas de hibridização. Se alguma placa possuir menos de 88 amostras, remova o número adequado de tiras de captura ou de poços da placa, devolva-os à embalagem de Mylar® original e armazene a 2-8°C. Substitua **todos** os poços que estiverem faltando na placa de captura por RCS Microplate Well Strips.

**Nota:** Se forem utilizadas várias sondas na execução do RCS, recomenda-se numerar as placas de captura e as tampas e etiquetá-las com o tipo de sonda a ser distribuído na placa.

6. Empilhe as placas de captura em ordem numérica, com a placa número 1 por cima. Certifique-se de que cada placa esteja alinhada corretamente com a posição do poço A1 no canto posterior esquerdo. Coloque uma tampa **apenas** sobre a placa 1 e coloque as placas no empilhador A (consulte Disposição da plataforma do RCS, Figura 1).

**CUIDADO: Risco de travamento do braço de pinça** – Se não for carregado o número correto de placas de hibridização e captura no RCS, quando o instrumento tentar recolhê-los do agitador ou do empilhador A, pode ocorrer uma interrupção ou um erro do sistema. Isso pode exigir a reinicialização da execução e/ou pode danificar o instrumento.

7. Se necessário, esvazie o recipiente de resíduos líquidos.

**Nota:** Certifique-se de que o recipiente de resíduos esteja vazio, antes de começar cada execução! O recipiente de resíduos pode extravasar para a plataforma, causando transbordamento e contaminação por fosfatase alcalina. Troque sempre as luvas depois de manipular o recipiente de resíduos líquidos ou de entrar em contato com a solução residual, inclusive com as conexões de desengate rápido, para evitar a contaminação das áreas de trabalho pela fosfatase alcalina presente na solução residual.

- Se isso ainda não tiver sido feito em uma execução anterior, coloque etiquetas nos reservatórios de reagentes e tampas, como exigido para a execução de scripts do RCS: Sonda 1, Sonda 2, Sonda 3, Reagente de detecção 1 e Reagente de detecção 2. É importante etiquetar os reservatórios e separar os reagentes para evitar a sua possível contaminação de uma execução para a outra. Depois de etiquetá-los, não utilize os reservatórios com outros reagentes. Recomenda-se manter dois conjuntos de reservatórios de reagentes, para que um conjunto seco e limpo sempre esteja disponível.

## Preparação de reagentes

- Preencha o recipiente de resíduos com 1x tampão de lavagem com o volume necessário (Consulte a seção *Preparação e armazenamento do reagente* a respeito da execução do *digene* HC2 DNA Test adequado no Rapid Capture System). Certifique-se de que a válvula de liberação rápida se encaixe firmemente no lugar.

**CUIDADO:** Confirme se o recipiente de lavagem foi preenchido corretamente antes de cada execução com no mínimo 6 L para > 2 placas ou 3 L para ≤ 2 placas.

- Esvazie o recipiente de líquido do sistema e preencha-o com água desionizada ou destilada fresca. Certifique-se de que a válvula de liberação rápida se encaixe firmemente no lugar.

**CUIDADO:** Confirme se o recipiente de líquido do sistema foi preenchido corretamente antes de cada execução com no mínimo 1 L.

- Adicione o volume necessário do Reagente de detecção 2 ao reservatório de reagentes designado e coloque-o no poço esquerdo posterior do rack de reservatórios de reagentes. Cubra o reservatório com a tampa correspondente (consulte a seção *Preparação e armazenamento do reagente* e *Disposição da plataforma do RCS*, figura 1).
- Adicione o volume necessário do Reagente de detecção 1 ao reservatório de reagentes designado e coloque-o no poço central posterior do rack de reservatórios de reagentes. Cubra o reservatório com a tampa correspondente (consulte a seção *Preparação e armazenamento do reagente* e *Disposição da plataforma do RCS*, figura 1).
- Adicione a mistura de sonda preparada ao(s) reservatório(s) de reagentes de sonda designado(s) e coloque o(s) reservatório(s) na(s) posição(ões) apropriada(s) no rack de reservatórios de reagentes. Cubra o(s) reservatório(s) com a tampa correspondente.

**Nota:**

Veja a Figura 1: Disposição da plataforma do RCS ou consulte a impressão do RCS ScriptSelect Software a respeito do posicionamento adequado das sondas para a execução específica do RCS.

Para o posicionamento adequado da mistura de sonda, aplicam-se as regras a seguir:

Ensaio de sonda única indica que será gerado um resultado do *digene* HC2 DNA Test para as amostras. Uma execução de sonda única do RCS exige que a mistura de sonda seja colocada na posição de reservatório com a etiqueta Sonda 1 na plataforma do RCS.

Ensaio de sonda dupla indica que serão gerados dois resultados do *digene* HC2 DNA Test para cada amostra; um rack de amostras é distribuído para duas placas diferentes para os testes com dois *digene* HC2 DNA Tests. Para uma execução de sonda dupla do RCS, a "probe" a ser testada com o calibrador positivo 1 é colocada na posição de reservatório com a etiqueta Sonda 1, e a sonda a ser testada com o calibrador positivo 2 é colocada na posição de reservatório com a etiqueta Sonda 2. As placas associadas a um ensaio de sonda dupla são sempre as primeiras a serem distribuídas. Por isso, sempre carregue o rack a ser usado para o ensaio de sonda dupla primeiro na plataforma do RCS.

Ensaio de duas sondas indica que será gerado um resultado do *digene* HC2 DNA Test para cada rack de amostras. Para uma execução com duas sondas do RCS, a posição de reservatório com a etiqueta Sonda 1 contém a sonda a ser distribuída na(s) primeira(s) placa(s) designada(s) pelo script selecionado pelo usuário. A posição de reservatório com a etiqueta Sonda 2 contém a sonda a ser distribuída na(s) placa(s) restante(s).

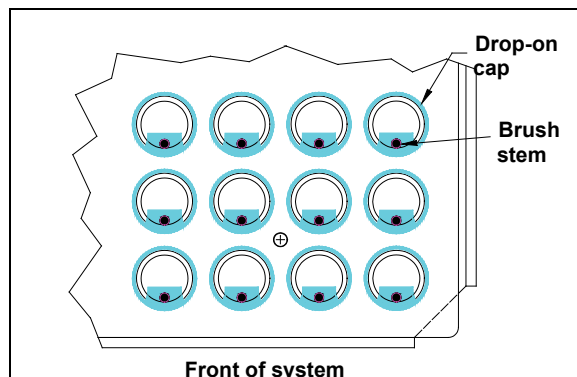
**Nota:** O RCS emprega um sensor de nível de líquido ao distribuir reagentes dos reservatórios para uma placa. Caso o volume seja insuficiente (ou nulo), o sistema pausa, exibe uma caixa de diálogo indicando o problema e avisa o usuário com um alarme sonoro. O usuário pode, então, colocar o reservatório de reagente cheio na plataforma ou adicionar mais reagente, conforme o caso.

- Quando as amostras tiverem concluído a incubação para desnaturação de 45 minutos, recolha os racks do banho-maria e retire o excesso de água com toalhas de papel.

**Nota:** **NÃO** deixe que os racks de amostras resfriem até a temperatura ambiente antes de remover a tampa. Se ocorrer o resfriamento, os tubos podem aderir à tampa e vazarem posteriormente.

- Logo em seguida, coloque o rack com a etiqueta 1 no MST Vortexer 2 e agite por no mínimo 10 segundos na velocidade 100 (máxima) do motor.
- Rapidamente, coloque o rack sobre a bancada e solte as travas. Erga a tampa do rack ~1 cm e mova-a com cuidado para a esquerda e a direita para liberar os tubos de amostras que possam ter aderido ao filme DuraSeal. Remova a tampa erguendo-a em linha reta até liberar a base do rack.
- Retire o filme DuraSeal da tampa com cuidado e descarte-o.
- Repita as etapas 7-9 para os racks de amostras restantes.
- Oriente o rack de modo que o **calibrador** negativo fique no canto superior esquerdo. Coloque uma tampa de encaixe em cada tubo contendo uma escova ou swab no rack de amostras 1. Certifique-se de que a haste do dispositivo de coleta fique presa entre a aba da tampa de encaixe e a lateral do tubo de amostra. As tampas de encaixe devem ser posicionadas de modo que a aba fique próximo do usuário diante do rack (Figura 2).

Figura 2. Orientação das tampas de encaixe



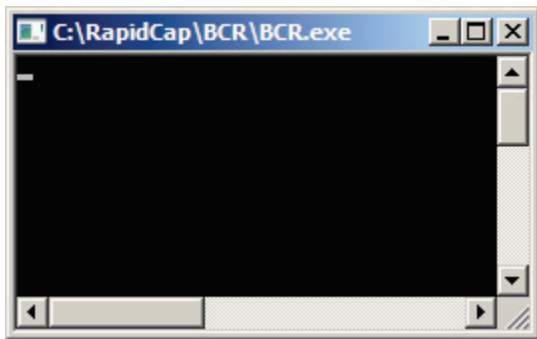
# Inicialização da execução do Rapid Capture System

**CUIDADO:** Não tente acessar a parte interna do instrumento enquanto os braços de pinça estiverem se movendo. Pause o instrumento pressionando a tecla **Esc** ou clicando no ícone "Abort Run" (Interromper execução) e aguarde a exibição de uma caixa de diálogo antes de reajustar ou reposicionar as placas.

## Exemplo de execução do Rapid Capture System 1: Script 1Ddu

**Nota:** O script 1Ddu é um ensaio de sonda dupla e é um exemplo prático de teste de amostras em dois *digene* HC2 DNA Tests. O usuário do Rapid Capture System seleciona esse script ao testar um rack de amostras cervicais com o *digene* HC2 CT-ID DNA Test e o *digene* HC2 GC-ID DNA Test, usando o kit *digene* HC2 CT-GC Dual ID.

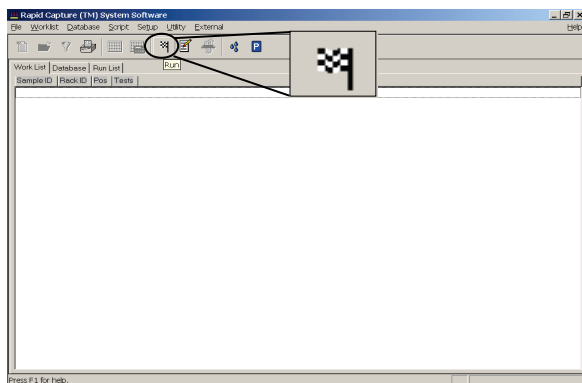
**Nota:** A atualização de código de barras inclui um aplicativo que salva os códigos de barras lidos para serem usados pelo sistema de software *digene* HC2. Enquanto o aplicativo de leitura de código de barras estiver em execução, uma janela de comando será exibida. Não feche a janela de comando. Ela será fechada automaticamente depois que o código de barras estiver salvo. Se a janela for fechada pelo usuário, o código de barras lido não será salvo.



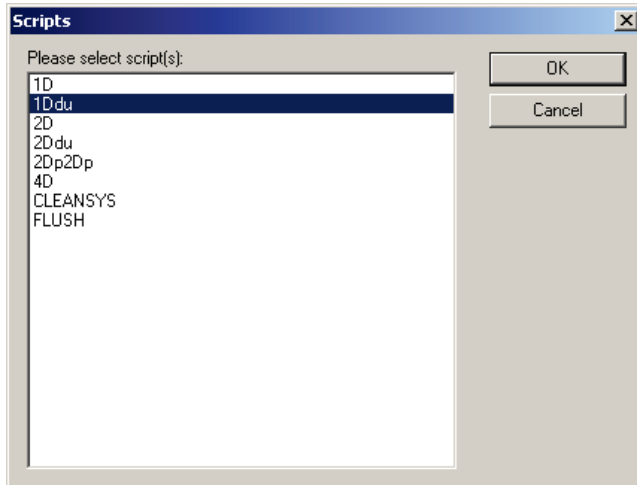
A atualização de código de barras inclui uma funcionalidade para garantir que a placa de captura lida corresponda à placa de captura correta. No entanto, é importante que os usuários não troquem a sequência das placas no RCS (por exemplo, durante uma recuperação de erro) para garantir que a associação entre a placa de captura e a placa de hibridização esteja correta. A associação incorreta entre as placas pode levar a resultados errôneos

1. Use o RCS ScriptSelect para escolher o script adequado.

No menu principal do Rapid Capture System Software, clique no ícone de bandeira.

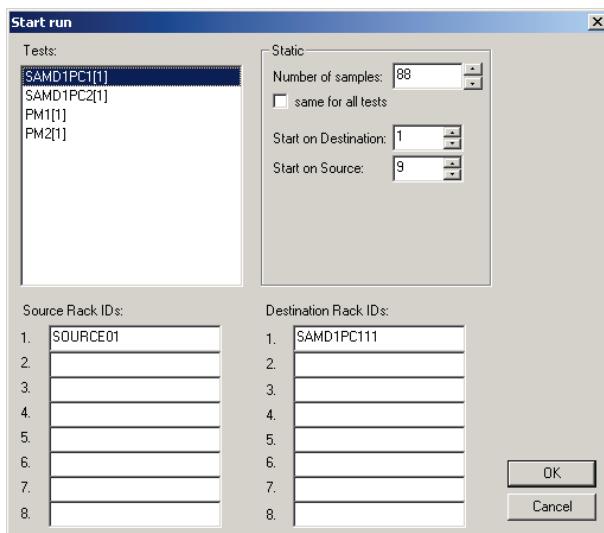


2. A caixa de diálogo **Script** é exibida, apresentando os scripts adicionados à lista de execução do Rapid Capture System por meio do RCS ScriptSelect Software. Selecione o script apropriado para a execução do Rapid Capture System. O exemplo dado abaixo mostra a seleção de um script **1Ddu**.
3. Realce **1Ddu**. Clique em **OK**.



**Nota:** O script **1Ddu** exige 1 *digene* Specimen Rack (azul) e duas sondas colocadas nas posições da Sonda 1 e da Sonda 2. Ele não pode ser usado para um script de sonda dupla, indicado pela abreviação "**du**". Consulte a seção *Procedimento de aplicação do RCS ScriptSelect* deste manual do usuário para mais detalhes da terminologia de scripts

4. Uma janela intitulada **"Start run"** (Iniciar execução) é exibida.



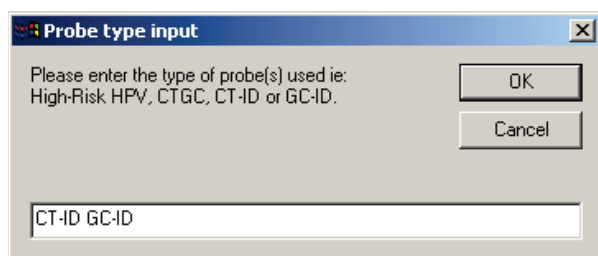
5. A janela **"Start run"** oferece a opção de inserir o número de amostras por placa. Na caixa **Static** (Estático) da janela **"Start run"**, o número padrão de amostras para uma placa completa é de 88 amostras. O teste **SAMD1PC(1)** determina o número de amostras a serem transferidas do rack de amostras para a placa de hibridização. O **PM1(1)** determina o número de poços designados a receber reagentes e inclui os calibradores e controles. Isso é necessário apenas se uma placa parcial (com menos de 88 amostras) for incluída na execução. Para este exemplo, 88 amostras estão sendo testadas, e se aplicam as configurações padrão.



Veja o exemplo de execução do Rapid Capture System 2: Script 3Dp1Dp, Etapas 6 a 11, para mais detalhes.

**Cuidado:** Em hipótese alguma a caixa "same for all tests" (igual para todos os testes) deve ser selecionada durante a execução de qualquer *digene* HC2 DNA Test. A seleção dessa caixa pode levar à adição da quantidade inadequada de reagente a algumas amostras de pacientes.

6. Clique em "OK" para iniciar o script.
7. A caixa de diálogo "Probe type input" (Entrada de tipo de sonda) é exibida. Digite os tipos de sonda a serem utilizados na execução do Rapid Capture System. Para este exemplo, serão utilizadas as sondas CT e GC na execução do Rapid Capture System. Digite **CT-ID GC-ID** na caixa de diálogo. Clique em "OK".

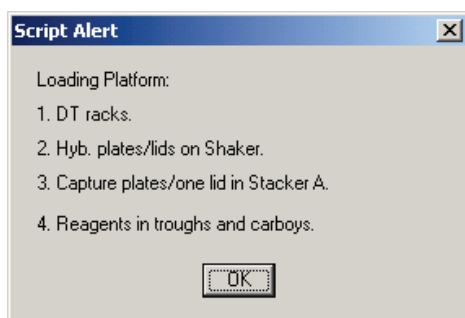


8. O software Rapid Capture System imprime automaticamente o script selecionado e os tipos de sonda inseridos na caixa de diálogo **Probe type input**. Veja o exemplo da impressão produzida abaixo:

output.txt

```
Script: 1Ddu
Specimens: 0 Conversion (C) racks and 1 Digene (D) rack(s).
This is a Dual probe script.
Probe type(s) used in this run: CT-ID GC-ID
Date/Time: 3/20/2003 14:16:56
```

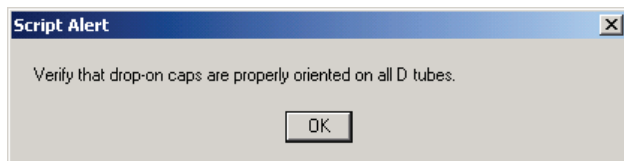
9. Todos os componentes do sistema serão inicializados, e uma janela é exibida para lembrar o usuário da preparação necessária da plataforma.



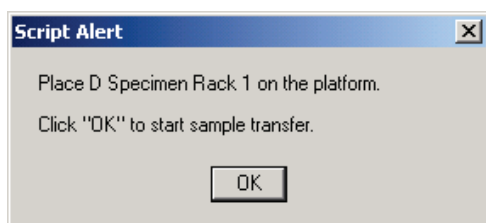
**Nota:** Para uma execução do 1Ddu do Rapid Capture System, a sonda para a placa 1 é colocada na posição da sonda do reservatório 1 e corresponde ao calibrador positivo 1. A sonda a ser distribuída na placa 2 é colocada na posição da sonda do reservatório 2 e corresponde ao calibrador positivo 2.

10. Clique em "OK" após confirmar que a plataforma do Rapid Capture System está configurada corretamente, de acordo com a impressão. O Rapid Capture System prepara e enxágua as linhas com líquido do sistema.

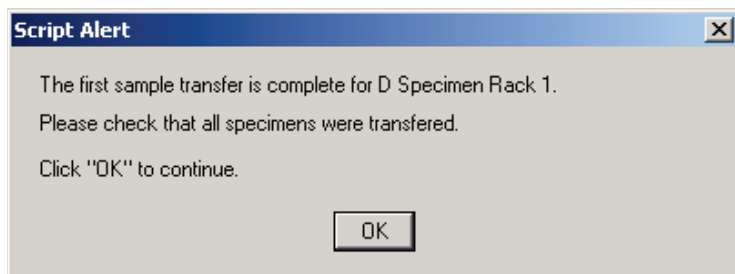
1. Outra caixa de diálogo é exibida, então, para lembrar o usuário de confirmar se as tampas de encaixe foram colocadas nos tipos de tubos de amostras *digene*.



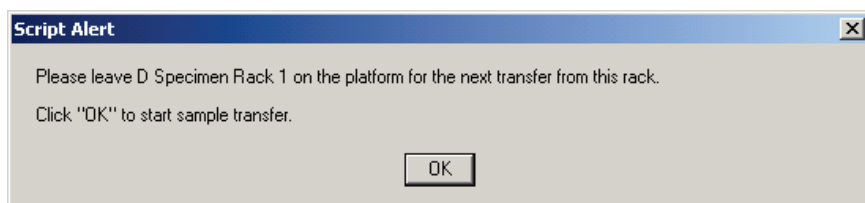
11. Clique em "OK" após a colocação das tampas de encaixe em todas as amostras.
12. Coloque o *digene* (D) Specimen Rack 1 na plataforma, posicionando-o de modo que o canto com entalhe do rack fique voltado para frente e para a direita, e a base seja posicionada dentro das guias do rack na plataforma.



13. Clique em "OK".
14. Após a transferência das amostras do rack 1, a tela exibirá outra janela de alerta para lembrar o usuário de verificar se todas as amostras foram transferidas. **Depois de retirar a placa de hibridização da plataforma, inspecione visualmente a placa de hibridização em busca de poços vazios que deveriam ter recebido amostra.** Em caso de falha na transferência, as amostras devem ser transferidas manualmente com o uso de um pipetador monocal (20-200 µl) e pontas de pipeta extralongas. O volume de transferência é de 75 µl. A posição do poço na placa corresponde diretamente à posição do tubo de amostra no rack. O rack de amostras deve ser removido da plataforma para facilitar a transferência manual. **Entretanto, antes de continuar a execução, é fundamental que a placa e o rack sejam posicionados corretamente ao retornar para a posição de pipetagem.**

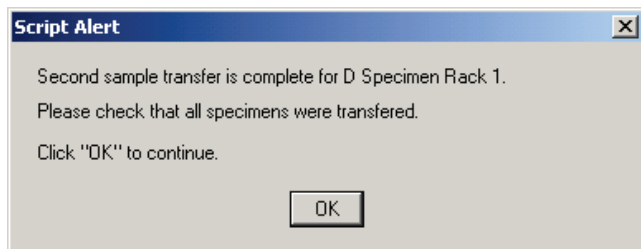


15. Clique em "OK".
16. Para um "Dual-Probe assay", é usado o mesmo *digene* Specimen Rack para transferir amostras para a placa 2. O *digene* Specimen Rack é retornado para a posição da plataforma.



17. Clique em "OK" para iniciar a transferência de amostras.

18. Uma caixa de alerta aparecerá para instruir o usuário de que a segunda amostra de transferência foi concluída. Remova o digene Specimen Rack e a placa e verifique se todas as amostras foram transferidas. Se alguma amostra não tiver sido transferida, consulte a etapa 13.



19. Depois que o último rack de amostras tiver sido transferido e verificado, uma janela aparecerá, lembrando o usuário de encher novamente os racks DT. Substitua a placa.



20. Nesse momento, encha novamente todos os suportes de rack de ponta descartável vazios ou parcialmente vazios com racks de pontas completos. Esvazie o recipiente de resíduos de pontas descartáveis. É importante seguir as instruções nas caixas de alertas de script, antes de clicar em "OK". O software operacional irá controlar o tempo da RCS, depois que a etapa de adição de misturas de sondas tiver sido iniciada. Quaisquer interrupções do usuário depois desse ponto vai interferir com os tempos de incubação do ensaio.
21. Clique em "OK" e o Rapid Capture System irá concluir todas as etapas subsequentes do ensaio por meio da incubação do reagente 2 de detecção, fornecendo 3,5 horas de tempo de funcionamento sem a necessidade da interferência do usuário. Defina um temporizador para 3 horas e 20 minutos, para garantir a devolução para o instrumento em tempo para ler a primeira placa.

#### Notas:

- O software Rapid Capture System monitora a temperatura das câmaras da incubadora. A adição da mistura de sondas não será iniciada, até que temperatura definida de 65°C seja atingida. Nesse momento, o script continuará automaticamente, sem que seja necessária a intervenção do usuário.
- Tenha cuidado ao empregar uma abordagem totalmente automatizada de fuga. Se ocorrer um erro do instrumento, o Rapid Capture System soará um alarme, pausará e esperará ação do usuário, que pode invalidar qualquer sequência de tempo atualmente em andamento.

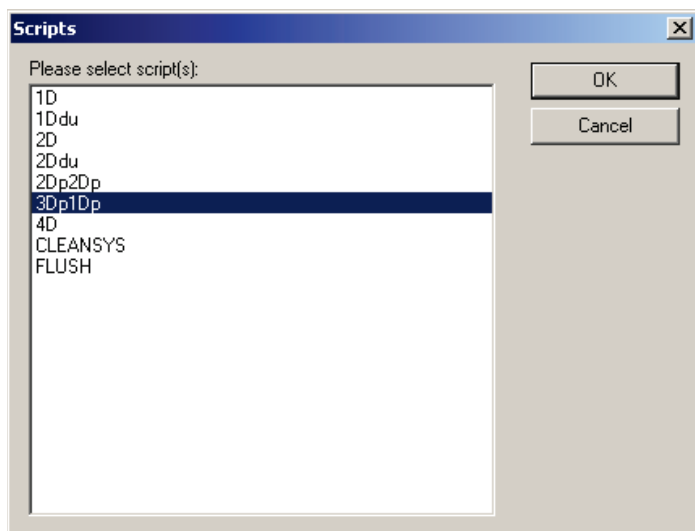
22. No caso de uma interrupção do sistema, o instrumento irá parar por conta própria e soará um alarme. Uma mensagem de erro será exibida. Consulte imediatamente o representante de assistência técnica local QIAGEN para obter as instruções corretas.

#### Execução do Rapid Capture System, Exemplo 2: Script 3Dp1Dp

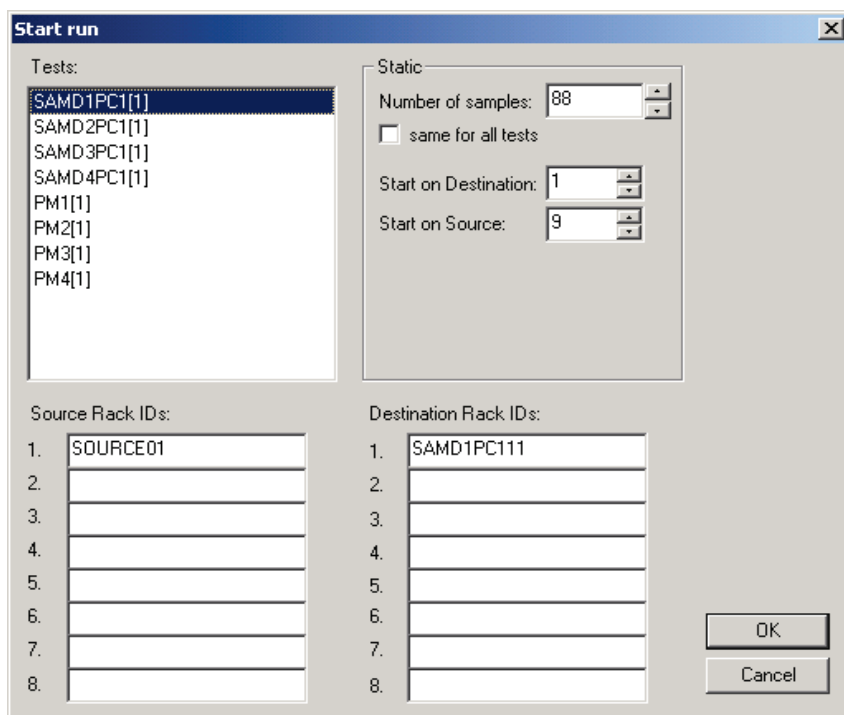
1. Use o RCS ScriptSelect Software para escolher o script adequado.
2. No menu principal do software Rapid Capture System, clique no ícone da bandeira.



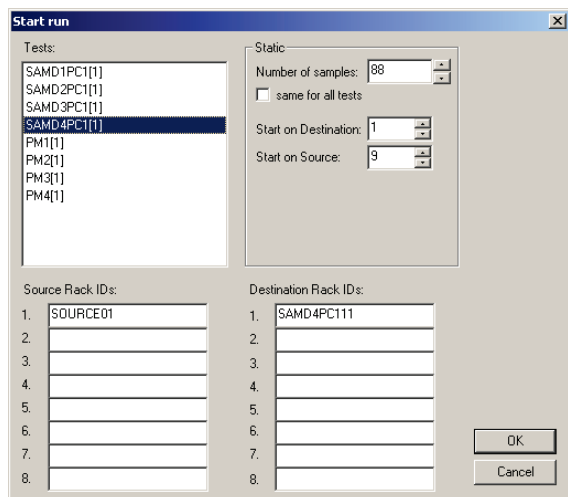
3. A caixa de diálogo **Scripts** é exibida, listando os scripts adicionados à lista de execução do Rapid Capture System por meio do RCS ScriptSelect Software. Selecione o script apropriado para a execução do Rapid Capture System. O exemplo dado abaixo mostra a seleção de um script 3Dp1Dp Script.



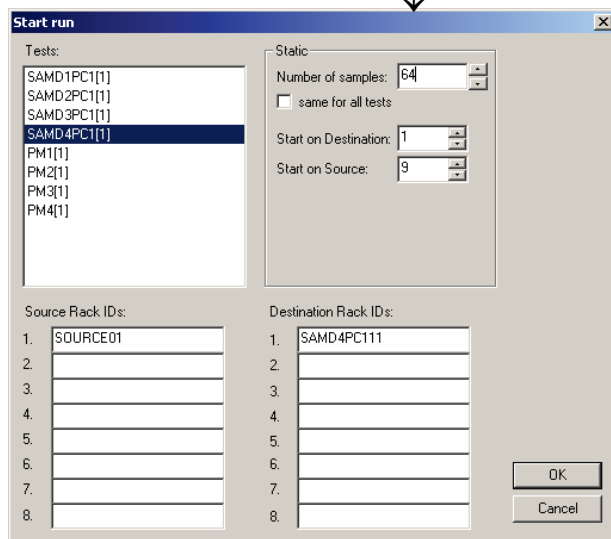
4. Realce 3Dp1Dp.
5. Clique em "OK".
6. Uma janela intitulada "Start run" será exibida.



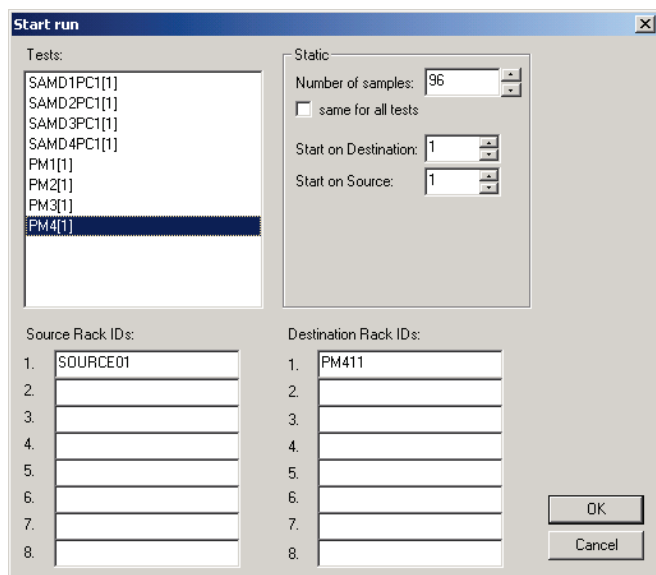
7. Na caixa de lista "Tests" (Testes), clique no teste **SAMD4PC1(1)** correspondente ao número de placa parcial 4 para este exemplo específico.



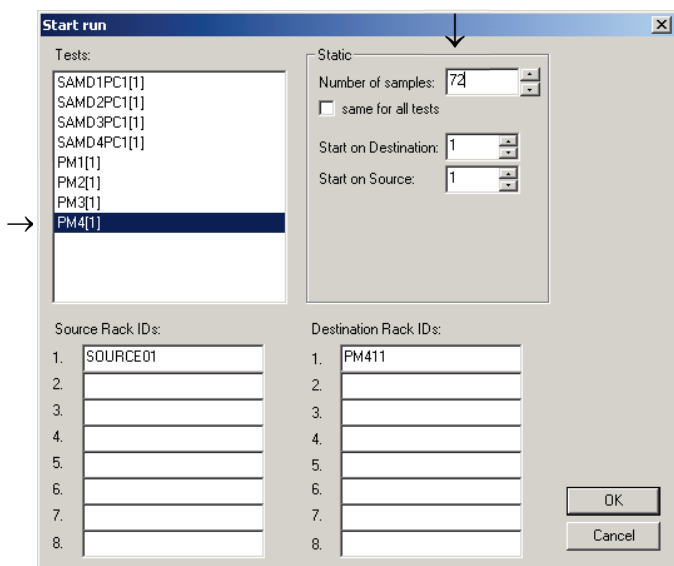
8. Na caixa "Static Numbers of Samples" (Números estáticos de amostra), insira o número de amostras, sem incluir calibradores ou controles, a serem executadas na placa parcial. O teste **SAMDPC** determina o número de amostras a serem transferidas do rack para a placa de hibridização. O número padrão de amostras para o **SAMD4PC1(1)** é 88.
9. Para este exemplo, a última placa de uma execução de quatro placas tem 64 amostras. Realce o teste **SAMD4PC1(1)** e, em seguida, insira **64** em "Number of samples" (Número de amostras). É fundamental que a quantidade correta de amostras seja inserida para placa adequada. A inserção de um número menor do que o valor correto resultará em amostras não serem transferidas do tubo de coleta de amostras. Isso pode resultar em falha de instrumentos e ensaios inválidos, devido à formação de precipitado, que pode entupir as cânulas da cabeça de lavagem. Inserir um número de amostras maior do que o valor correto tem consequências menos sérias, pois isso resultara apenas em um tempo mais longo que o necessário para transferir o rack. Os resultados de ensaios e o desempenho do instrumento não será afetado.



10. Em seguida, na caixa **Tests**, clique no teste **PM4(1)** correspondente ao número de placa parcial 4 para este exemplo específico. O número de amostras se torna, por padrão, uma placa cheia de 96. Ao executar menos que uma placa cheia de amostras, é fundamental digitar o número específico de poços necessários para a execução do Rapid Capture System.

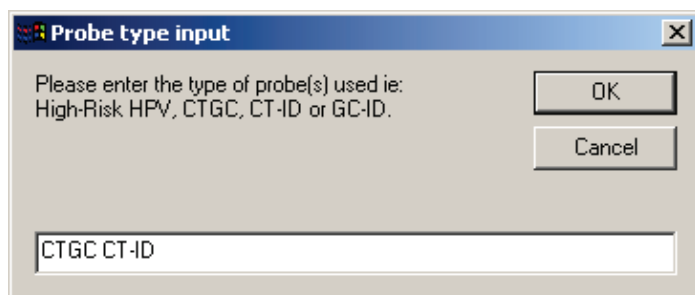


11. Na caixa "Static", insira o número de amostras mais 8 (para calibradores e controles). O teste **PM** determina o número de poços que irão receber reagentes do ensaio. Para o exemplo acima, realce **PM4(1)** e, em seguida, insira **72** em "**Number of samples**". É fundamental que a quantidade correta de amostras seja inserida ara placa adequada. A inserção de um número menor do que o valor correto resultará em poços de amostras não processados pelo instrumento. A inserção de um número de amostras maior que o valor correto pode levar a ensaios inválidos e a falha do instrumento, devido à formação de precipitado que pode entupir as cânulas da cabeça de lavagem.

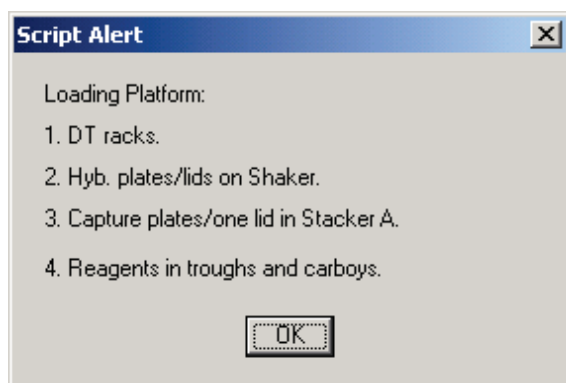


**Cuidado:** Em hipótese alguma a caixa "same for all tests" (igual para todos os testes) deve ser selecionada durante a execução de qualquer *digene* HC2 DNA Test. A seleção dessa caixa pode levar à adição da quantidade inadequada de reagente a algumas amostras de pacientes.

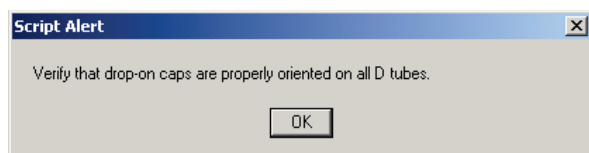
12. Clique em "OK" para iniciar o script.
13. A caixa de diálogo "Probe type input" (Entrada de tipo de sonda) é exibida.
14. Digite os tipos de sonda a serem utilizados na execução do Rapid Capture System. Para esse exemplo, as sondas CT/GC e CT deverão ser testadas. Digite CTGC CT-ID. Clique em OK.



15. O software Rapid Capture System imprime automaticamente o script selecionado e os tipos de sonda inseridos na caixa de diálogo **Probe type input**. Manter no registro do Rapid Capture System.
16. Todos os componentes do sistema serão inicializados, e uma janela é exibida para lembrar o usuário da preparação necessária da plataforma.

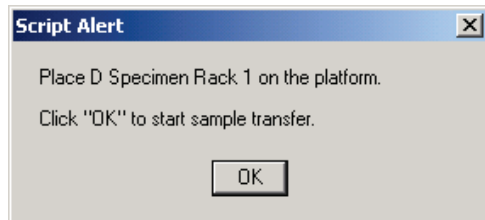


17. Clique em "OK" para permitir que as linhas líquidas do sistema sejam escorvadas e lavadas.
18. Uma outra caixa de diálogo será exibida, lembrando ao usuário de verificar se as tampas tipo conta-gotas foram colocadas em amostras do rack 1.



19. Clique em "OK".

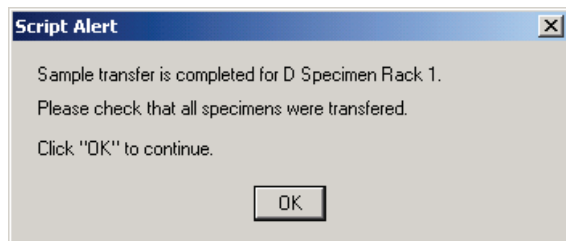
20. Coloque o rack 1 no deck, de forma que o canto dentado do rack esteja na frente e à direita e a base esteja posicionada dentro das guias do rack sobre o rack.



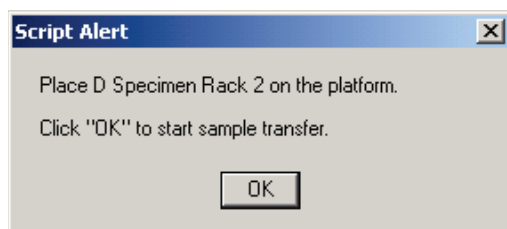
21. Clique em "OK" para iniciar a transferência de amostras.
22. Adicione tampas tipo conta-gotas aos racks de amostras restantes, durante esse tempo.

**DICA:** Para um fluxo de trabalho mais eficiente, comece a transferência do rack 1, antes de colocar tampas estilo conta-gotas nos racks de amostra remanescentes.

23. Após a transferência das amostras do rack 1, a tela exibirá outra janela de alerta para lembrar o usuário de verificar se todas as amostras foram transferidas. **Depois da remoção do rack e da placa de hibridização do deck, inspecione visualmente a placa de hibridização, a procura de algum poço vazio que deveria ter recebido amostra.** Em caso de falha na transferência, as amostras devem ser transferidas manualmente com o uso de um pipetador monocanal (20-200 µl) e pontas de pipeta extralongas. O volume de transferência é de 75 µl. A posição do poço na placa corresponde diretamente à posição do tubo de amostra no rack. A placa do rack é removida do deck para facilitar uma transferência manual. **No entanto, antes de continuar a execução, é fundamental que a placa seja devidamente posicionada, quando devolvida à posição de pipetagem.**



24. Clique em "OK". Uma outra janela de alerta será exibida, lembrando ao usuário de verificar se as tampas tipo conta-gotas foram colocadas no rack 2.
25. Coloque o rack 2 no deck e clique em "OK".



26. Repita as etapas de 15 a 25 até que as amostras em todos os racks tenham sido transferidas.
27. Depois que o último rack de amostras tiver sido transferido e verificado, uma janela aparecerá, lembrando o usuário de encher novamente os racks DT.



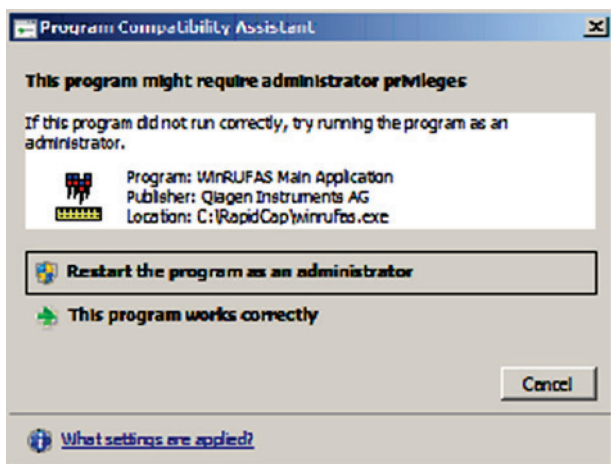


28. Nesse momento, encha novamente todos os suportes de rack de ponta descartável vazios ou parcialmente vazios com racks de pontas completos. Esvazie o recipiente de resíduos de pontas descartáveis. É importante que essas etapas sejam concluídas, antes de clicar em "OK". O software de operação irá controlar o tempo do Rapid Capture System quando a adição da mistura de sondas começar. Quaisquer interrupções do usuário depois desse ponto vai interferir com os tempos de incubação do ensaio.
29. Clique em "OK" e o Rapid Capture System irá concluir todas as etapas subsequentes do ensaio por meio da incubação do reagente 2 de detecção, fornecendo 3,5 horas de tempo de funcionamento sem a necessidade da interferência do usuário. Defina um temporizador para 3 horas e 20 minutos, para garantir a devolução para o instrumento em tempo para ler a primeira placa.

**Notas:**

- O software RCS monitora a temperatura das câmaras da incubadora de hibridização. A adição de sonda não será iniciada, antes de a temperatura definida de 65°C tenha sido atingida. Nesse momento, o script continuará automaticamente, sem que seja necessária a intervenção do usuário.
- Se ocorrer um erro do instrumento, o Rapid Capture System soará um alarme, pausará e esperará ação do usuário. **Portanto, recomendamos que o usuário permaneça há uma distância em que possa ouvir o instrumento durante a execução.** Se ocorrer um erro, consulte imediatamente o representante de assistência técnica local QIAGEN para obter as instruções.

30. No caso de uma interrupção do sistema, o instrumento irá parar por conta própria e soará um alarme. Uma mensagem de erro será exibida. Consulte o representante de assistência técnica local QIAGEN para obter as instruções corretas. Ao sair do software RCS depois da execução de um script, o Assistente de compatibilidade do Windows pode ser exibido. O RCS foi validado para uso com o Windows 7. Esta caixa de diálogo pode ser fechada sem problemas.



## Leitura das microplacas e geração de resultados

**Nota:** O luminômetro aprovado pela QIAGEN deve ser ligado pelo menos uma hora antes da leitura da primeira placa. Recomendamos que o luminômetro aprovado pela QIAGEN fique ligado o tempo todo.

O usuário deve retirar as microplacas do deck do Rapid Capture System no fim da incubação do reagente 2 de detecção para cada placa. Cada placa será colocada, em seguida, no luminômetro aprovado pela QIAGEN para geração de resultados.

1. Quando a placa 1 tiver concluído sua incubação do reagente 2 de detecção e estiver pronta para detecção de sinal usando o luminômetro aprovado pela QIAGEN, o Rapid Capture System soará um alarme e a janela "Script Alert" (Alerta de script) com a mensagem "Assay is completed" (Ensaio concluído) será exibida. "Read plate in luminometer" (Leia a placa no luminômetro) será exibido.



1. Recupere a placa do deck.
2. Clique em "OK" para permitir que o RCS continue processando as placas remanescentes.
3. Coloque a placa no luminômetro aprovado pela QIAGEN e leia. Consulte o manual do usuário do luminômetro aplicável e o Manual do usuário do sistema de software digene HC2 para obter detalhes com relação à medição de uma placa e à geração de relatórios de resultados.
4. Repita as etapas 1 - 4 acima para todas as placas remanescentes.
5. Consulte o teste de DNA *digene* HC2 CT/GC, o teste de DNA *digene* HC2 CT-ID ou o IFU do teste de DNA *digene* HC2 GC-ID para controle de qualidade, verificação do ensaio e instruções para interpretação dos resultados.

**Nota:** A impressão de relatórios de resultados pode, em algumas situações, levar a uma desaceleração do RCS que pode afetar o tempo do ensaio. Recomendamos que os resultados de uma placa sejam impressos antes que os resultados das placas subsequentes sejam lidos, para evitar essa situação. Como alternativa, todas as placas podem ser lidas, mas os resultados não devem ser impressos, até que a execução do RCS tenha sido concluída.

## Limpeza diária/do sistema

1. Descarte as placas de hibridização no empilhador B e a tampa da placa no empilhador A.
2. Limpe as canaletas e as tampas dos reagentes como se segue:
  - 1j. Canaletas: Lave e enxágue com água destilada ou deionizada e encha completamente com a solução de hipoclorito de sódio, 0,5% v/v. Deixe as canaletas embebidas na solução de hipoclorito de sódio durante a noite. No dia seguinte, enxágue completamente as canaletas com água destilada ou deionizada por pelo menos 60 segundos. Coloque as canaletas invertidas em uma toalha de papel para secar. Substitua as canaletas de reagentes todo mês.
  - 1k. Tampas: Lave e enxágue com água destilada ou deionizada e deixe embebida completamente durante a noite em solução de hipoclorito de sódio, 0,5% v/v. No dia seguinte, enxágue completamente com água destilada ou deionizada por pelo menos 60 segundos. Coloque em uma toalha de papel para secar. As tampas das canaletas de reagentes não são descartáveis e não precisam ser substituídas, a menos que estejam danificadas ou tenham sido perdidas.

**NOTA:** Se uma segunda execução do Rapid Capture System se seguir, imediatamente a primeira execução, recomendamos usar um segundo conjunto de canaletas e tampas de canaletas.

3. Descarte as placas de captura depois da leitura e da verificação de ensaio.
4. Se o instrumento não for ser usado no próximo dia útil, cubra os suportes do rack de pontas que contêm pontas não usadas com uma tampa de placa.
5. Esvazie o recipiente de resíduos de pontas descartáveis em um recipiente adequado.
6. **Esvazie o recipiente de resíduos líquidos.** Os resíduos líquidos do Rapid Capture System têm um pH relativamente neutro. Descarte de acordo com os requisitos locais, estaduais e federais.
7. Certifique-se de que as conexões de liberação rápida fiquem travadas no local, ao reencaixar as conexões no recipiente de resíduos. Verifique também se o frasco está localizado corretamente sem dobras nas linhas.
8. Limpe as seguintes superfícies com um tecido macio umedecido em álcool ou toalha de papel com pouco fiapo:
  - 8a. Rodinhas e plataforma do agitador.
  - 8b. Estação de ejeção de pontas.
  - 8c. Proteção contra gotejamento da estação de ejeção de pontas (a proteção deve ser removida e lavada com água deionizada ou destilada).
  - 8d. Estação de lavagem de pontas. Remova a tampa plástica e enxágue com água destilada ou deionizada.
  - 8e. Rack de canaletas.
  - 8f. No interior do empilhador A e B.
  - 8g. Posições de pipetagem 1 e 2.

- 
- 8h. Todas as outras superfícies do deck.
  9. Limpe cada adaptador de pipeta com um pano embebido em álcool.
  10. Remova o recipiente do lavador de placas e limpe a plataforma do lavador e a parte superior e inferior do recipiente do lavador com tecido macio embebido em álcool ou toalha de papel com pouco fiapo.

<b>Nota:</b> Para evitar a contaminação das áreas de trabalho com a fosfatase alcalina presente na solução de resíduos, sempre troque as luvas, depois de qualquer possível contato com a solução de resíduos, incluindo o contato com as conexões de liberação rápida.
---

<b>Nota:</b> Consulte as seções Maintenance (Manutenção) e System Shut Down (Desligamento do sistema) do Manual do usuário do Rapid Capture System.
---

## Limitações do procedimento

1. Falha ao verificar visualmente a placa de hibridização para garantir a transferência correta de amostras e a falha em corrigir qualquer amostra incorretamente pipetada pode resultar em resultados falsos negativos.
2. Consulte os IFUs dos testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID para obter informações sobre limitações adicionais específicas do método de teste.

## Resultados esperados

Consulte os IFUs dos testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID ou GC-ID para obter informações sobre os resultados esperados.

# Características de desempenho

## Precisão

Um estudo foi realizado para determinar a precisão do Rapid Capture System Application dos testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID DNA. Painéis simulados de amostras clínicas de seis membros que consistem em células epiteliais cultivadas suspensas em meio de transporte de amostra (Specimen Transport Medium (STM)) foram usados para a avaliação de precisão. Painéis separados foram preparados para uso com os testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID DNA, cada um composto por duas amostras negativas, duas amostras baixo-positivas e duas amostras meio-positivas, todas contendo um dispositivo de coleta com escova. Cada painel foi testado três vezes, dois painéis por placa, duas placas por instrumento do Rapid Capture System, em dois instrumentos, durante cinco dias. Para avaliar o desempenho de precisão comparativa, o método manual foi realizado utilizando a mesma amostra adulterada nos mesmos dias, depois do mesmo formato de teste. Dois tecnólogos, um por instrumento do Rapid Capture System Application, executaram o Rapid Capture System Application e o método manual.

Os resultados totais de precisão para os testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID usando o Rapid Capture System Application compilado para todos os cinco dias de testes estão apresentados na **Tabela 1**. Esse estudo de precisão demonstrou que os resultados gerados usando o método do Rapid Capture System foram equivalentes aos resultados correspondentes gerados pelo método manual. Embora não seja evidente nessas tabelas, a interpretação qualitativa dos resultados foi de 100%, de acordo com o resultado esperado, com um corte de ensaio de 1,0.

**Tabela 1**

**Precisão total para os testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID usando o Rapid Capture System Application compilado para todos os cinco dias de testes (n=120)**

Painel Número	n	CT/GC			
		Média RLU/ CO	DP	CV%	Média ± 2 SD
1	120	0,18	0,067 5	38,44	0,04-0,31
2	120	0,17	0,058 8	34,95	0,05-0,29
3	120	3,65	0,769 0	21,04	2,12-5,19
4	120	3,93	0,692 7	17,61	2,55-5,32
5	120	14,63	3,362 7	22,98	7,91-21,36
6	120	17,91	3,252 3	18,16	11,41- 24,42

Painel Número	n	CT-ID				GC-ID			
		Média RLU/CO	DP	Média CV%	Média ± 2 SD	Média RLU/CO	DP	Média CV%	Média ± 2 SD
1	120	0,13	0,0213	16,35	0,09-0,17	0,12	0,027 9	23,33	0,06-0,18
2	120	0,14	0,0240	17,63	0,09-0,18	0,12	0,022 1	18,20	0,08-0,17
3	120	3,29	0,7237	21,97	1,85-4,74	3,13	0,569 5	18,22	1,99-4,27
4	120	4,07	0,5814	14,27	2,91-5,24	3,93	0,655 6	16,69	2,62-5,24
5	120	12,62	1,8652	14,78	8,89-16,35	14,05	3,254 9	23,16	7,54-20,56
6	120	12,32	1,9653	15,95	8,39-16,25	13,14	3,358 2	25,55	6,43-19,86

É necessário que cada laboratório avalie a precisão do Rapid Capture System Application, antes do uso clínico de rotina do teste de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID DNA. Para isso, recomendamos que os operadores usem um painel de amostras, o que permite que cada usuário estabeleça a precisão, depois que Rapid Capture System está instalado corretamente.

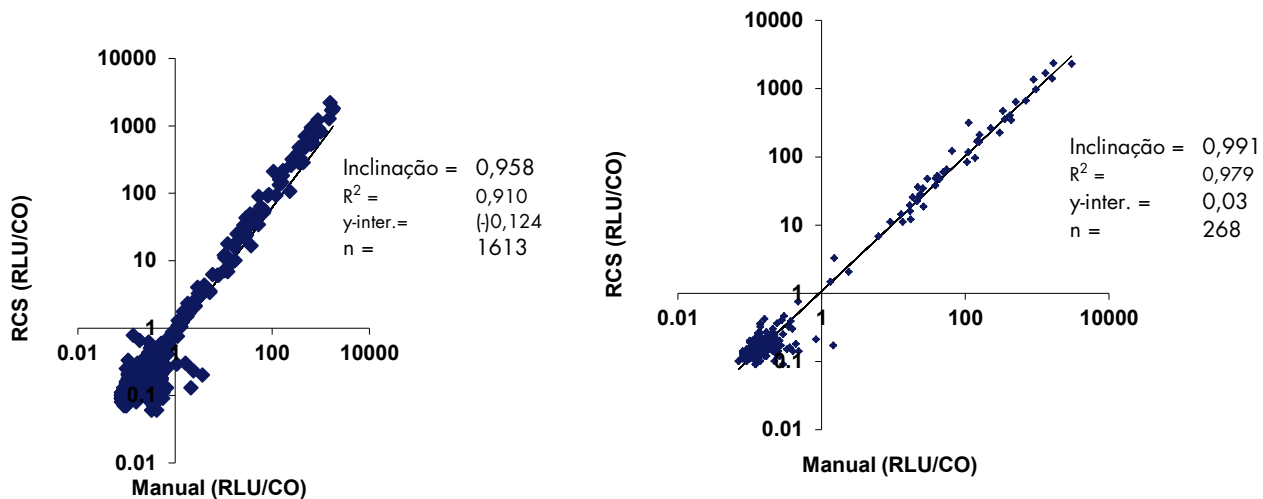
## Desempenho clínico comparativo do Rapid Capture System e de métodos manuais

Amostras cervicais foram testadas usando os testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID DNA utilizando o Rapid Capture System Application e os métodos manuais. Os resultados gerados para 1613 amostras cervicais arquivadas coletadas de uma população geográfica e clinicamente diversa estão mostrados no lado esquerdo das **Figuras 3, 4 e 5** dos testes com os testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID DNA, respectivamente. Os resultados gerados para 268 possíveis amostras cervicais coletadas em um local externo nos Estados Unidos estão mostrados no lado direito das **Figuras 3, 4 e 5** de cada teste, respectivamente.

### Figura 3

Diagrama de dispersão dos resultados iniciais dos testes de DNA *digene* HC2 CT/GC DNA com o Rapid Capture System Application e com o método manual em amostras cervicais arquivadas (n = 1613; esquerda).

Amostras cervicais coletadas por prospecção (n = 268; direita)

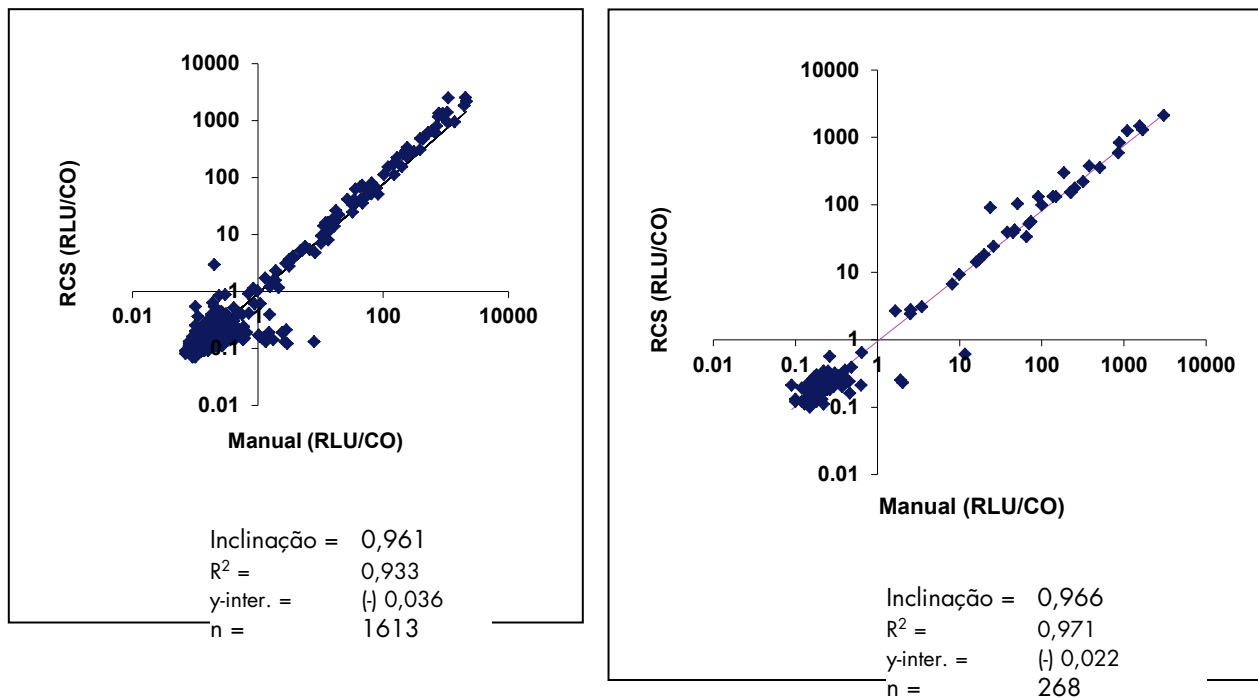


Essas análises de regressão linear para o teste de DNA *digene* HC2 CT/GC DNA demonstram que o Rapid Capture System Application e o método manual têm um relacionamento linear. A concordância geral entre os dois métodos foi de 99,6% (1607/1613; 99,2-99,9% 95% CI) para os resultados de amostras arquivadas e 99,6% (267/268; 97,9-100% 95% CI) para os resultados de amostras cervicais coletadas por prospecção. Portanto, esses dados demonstram que os dois métodos são equivalentes em desempenho.

#### Figura 4

Diagrama de dispersão dos resultados iniciais dos testes de DNA *digene* HC2 CT-ID com o Rapid Capture System Application e com o método manual em amostras cervicais arquivadas (n = 1613; esquerda).

Amostras cervicais coletadas por prospecção (n = 268; direita)



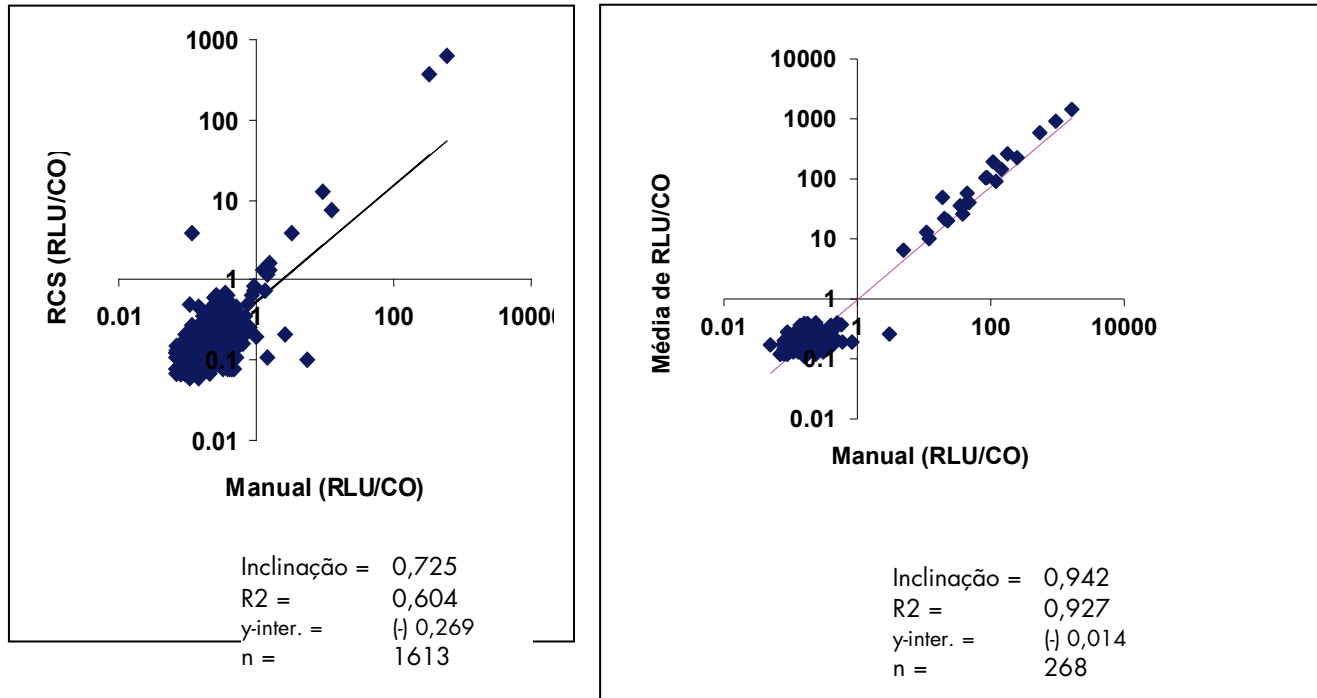
Essas análises de regressão linear para o teste de DNA *digene* HC2 CT-ID demonstram que o Rapid Capture System Application e o método manual têm um relacionamento linear. A concordância geral entre os dois métodos é de 99,7% (1608/1613; 99,3-99,9% 95% CI) para os resultados de amostras arquivadas e 98,9% (265/268; 96,8-99,8% 95% CI) para os resultados de amostras cervicais coletadas por prospecção. Portanto, esses dados demonstram que os dois métodos são equivalentes em desempenho.



Figura 5

Diagrama de dispersão dos resultados iniciais dos testes de DNA *digene* HC2 GC-ID com o Rapid Capture System Application e com o método manual em amostras cervicais arquivadas (n = 1613; esquerda).

Amostras cervicais coletadas por prospecção (n = 268; direita)



A análise de regressão linear para as amostras coletadas por prospecção testadas durante o teste de DNA *digene* HC2 GC-ID demonstra que o Rapid Capture System Application e o método manual têm um relacionamento linear, sugerindo que os dois métodos têm desempenho equivalente. Os valores da inclinação e da intersecção obtidos para os resultados das amostras arquivadas são menores do que o esperado, devido à baixa prevalência de GC na população testada. A concordância geral entre os dois métodos é de 99,8% (1609/1613; 99,4-99,9% 95% CI) para os resultados de amostras arquivadas e 99,6% (267/268; 97,9-100% 95% CI) para os resultados de amostras cervicais coletadas por prospecção.

**Nota:** Consulte os IFUs dos testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID ou GC-ID para obter características adicionais de desempenho.

## Referências

1. Martin LS, McDougal JS, Loskoski SL. Disinfection and inactivation of the human T lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus. J Infect. Dis 1985 Aug;152(2):400-3.

## RESUMO DO Rapid Capture System semiautomático

### Para execução dos testes de DNA *digene* HC2 CT/GC, CT-ID e GC-ID HC2

**Importante:** É altamente recomendado que o usuário esteja familiarizado com o procedimento detalhado, antes de usar este resumo.

	Procedimento
	<p><b>USE O RCS SCRIPTSELECT SOFTWARE PARA DETERMINAR A CONFIGURAÇÃO DE SCRIPT E DE PLACA DO Rapid Capture System.</b></p>
<b>DESNATURAÇÃO</b>	<p>Rotule os <i>digene</i> Racks. Prepare o reagente de desnaturação. Carregue controles, calibradores e amostras no rack do <i>digene</i>. Insira o ID da amostra no software, enquanto carrega as amostras no rack.</p> <p style="text-align: center;">↓</p>
	<p>Pipete o reagente de desnaturação (o volume é equivalente à metade do volume da amostra) em controles, calibradores e amostras. Centrifugue os controles, calibradores e amostras na centrífuga 2 do MST durante dez segundos à alta velocidade (consulte o manual de aplicação para obter detalhes). <b>Controles, calibradores e amostras devem ser roxo escuro.</b></p> <p style="text-align: center;">↓</p>
	<p>Incube em um banho-maria de <math>65 \pm 2^{\circ}\text{C}</math> durante <math>45 \pm 5</math> minutos. (Prepare os reagentes)</p> <p style="text-align: center;">↓</p>
<b>INSTRUMENTO CONFIGURAÇÃO</b>	<p>Rotule as placas de hibridização Coloque as placas de hibridização no misturador.</p> <p style="text-align: center;">↓</p>
	<p>Coloque as placas de captura com uma tampa sobre a placa de cima no empilhador A.</p> <p style="text-align: center;">↓</p>
	<p>Encha o frasco de lavagem com tampão de lavagem 1x.</p> <p style="text-align: center;">↓</p>
<b>TRANSFERÊNCIA DE AMOSTRA/ PROCESSAMENTO DE ENSAIO</b>	<p>Encha as canaletas de reagentes adequadas com misturas de sondas, reagente de detecção 1 e reagente de detecção 2 e coloque em seu local designado no rack de canaletas de reagente.</p> <p style="text-align: center;">↓</p>
	<p>Encha os cinco suportes de rack com racks de pontas descartáveis.</p> <p style="text-align: center;">↓</p>
	<p>Quando os racks de amostras tiverem terminado a desnaturação, remova do banho-maria, seque a água em excesso do rack e centrifugue por cinco segundos.</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>Remova a tampa do rack de amostras, coloque as tampas tipo conta-gotas nos tubos e coloque o rack no deck. Quando pronto, clique em "OK" para transferir a amostra.</p> <p style="text-align: center;">↓</p>

	Quando as amostras tiverem sido transferidas para o rack de hibridização, procure qualquer amostra ausente. Remova o rack e, em seguida, repita a operação para o resto dos racks de amostras a serem testadas.
	↓
	Depois de todos os racks de amostras a serem testadas tiverem sido transferidos, reabastecer os suportes de racks de pontas descartáveis com novas pontas descartáveis. Quando estiver pronto para continuar, clique em "OK" para adicionar sonda.
	↓
LEITURA	Leia a microplaca de captura no luminômetro aprovado pela QIAGEN.
	↓
	Valide o ensaio e interprete os resultados das amostras. Gere relatório.

## Procedimento de aplicação de HPV de risco

### I. Preparação e armazenamento do reagente

Consulte o IFU do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* Hybrid Capture 2 (HC2) para saber as advertências e precauções específicos para os reagentes do kit.

Para fornecer os volumes de reagente necessários para processamento de várias placas em uma única execução, é necessário combinar certos componentes de vários kits de testes do mesmo número de lote.

#### A. Reagentes necessários:

- Teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 [ou [REF](#) 5199-1220 (kit com uma placa) ou [REF](#) 5199-00016 (kit com quatro placas)]
- Dispositivo de coleta de DNA *digene* HC2 [consiste em uma escova cervical e de um tubo que contém 1 ml de meio de transporte de amostra (STM)]
- Solução PreservCyt® do teste ThinPrep®
- Kit de conversão de amostra *digene* HC2 (necessário para processamento das amostras da solução PreservCyt do teste ThinPrep Pap)

#### B. Diretrizes dos testes de reagentes de HPV do Rapid Capture System

- O desempenho de testes de alta taxa de produção de amostras não foi avaliado usando a sonda HPV de baixo risco e, portanto, o Rapid Capture System (RCS) não deve ser usado para testar os tipos 6/11/42/43/44 de HPV de baixo risco.
- Para otimizar o uso de reagente, recomendamos testar um mínimo de 88 amostras, o equivalente a uma placa por execução do Rapid Capture System. Menos de 88 amostras podem ser testadas por microplaca de captura, mas, no entanto, o Rapid Capture System requer um volume mínimo de reagente para que uma placa inteira seja colocada nas canaletas de reagente do RCS. O uso completo do kit pode não ser atingido quando menos de 88 amostras são testadas.
- **Componentes de kits de teste do mesmo número de lote podem ser combinados para fornecer os volumes necessários para processamento de execuções de várias placas. No entanto, não combine componentes de kits de diferentes lotes de kits. Os componentes foram testados como uma unidade. NÃO troque componentes com outras fontes ou com diferentes lotes de kits.**

## II. COLETA E MANUSEIO DE AMOSTRAS

Os tipos de amostras cervicais recomendadas para uso no teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 estão listados a seguir. Amostras retiradas com outros dispositivos ou transportadas em outro meio de transporte não foram qualificadas para serem usadas com esse ensaio. **As características do desempenho do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 com outros tipos de amostras e de dispositivos de coleta são desconhecidas.** As amostras cervicais devem ser coletadas, antes da aplicação de ácido acético ou iodo, se um exame de colposcopia estiver sendo realizado.

### A. Escovas cervicais

O teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 deve ser usado com amostras coletadas e transportadas usando o dispositivo de coleta de DNA *digene* HC2 (escova cervical e meio de transporte de amostra). As amostras podem ser guardadas por até duas semanas à temperatura ambiente e, depois disso, as amostras poderão ser armazenadas por mais uma semana a uma temperatura entre 2°C e 8°C. As amostras podem ser armazenadas a -20°C por até três meses antes do teste. Um conservante foi adicionado ao meio de transporte da amostra para retardar o crescimento bacteriano e para manter a integridade do DNA. **Não deve ser usado** para manter a viabilidade de organismos ou células.

**Tabela 1**

#### Requisitos de armazenamento de amostras endocervicais

Tempo antes do teste	Duração do armazenamento	Temperatura de armazenamento
Três semanas	Até duas semanas	Temperatura ambiente
	Até uma semana adicional	2 a 8 °C
Mais que três semanas	Até três meses	-20°C

As amostras podem ser enviadas sem refrigeração para um laboratório de teste, mas, no entanto, elas devem ser enviadas em um recipiente isolado por um fornecedor de entrega que entrega no dia seguinte ou em dois dias.

### B. Biópsias cervicais

Biópsias cervicais recentemente coletadas em seção-cruzada podem também ser analisadas com o teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2. A amostra da biópsia deve ser colocada imediatamente em 1,0 ml de meio de transporte de amostra e armazenada congelada a -20°C. As amostras de biópsia podem ser enviadas em temperaturas entre 2-30°C para entrega de um dia para o outro para o laboratório de teste e armazenadas a -20°C, até serem processadas. Não use biópsias de menos de 2 mm de diâmetro.

#### Nota:

Para evitar que as tampas saiam das amostras enviadas ou armazenadas congeladas (para amostras STM):

1. Cubra as tampas com Parafilm®, antes de enviar amostras congeladas. As amostras podem ser enviadas congeladas ou à temperatura ambiente.
2. Ao remover as amostras do freezer para teste, recoloque as tampas imediatamente com tampas de rosca do tubo de coleta de amostras.

## C. Amostras coletadas na solução PreservCyt

As amostras coletadas usando um dispositivo de coleta tipo escova e colocadas em solução PreservCyt para uso ao fazer as lâminas do teste ThinPrep Pap podem ser usadas para o teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2. Colete amostras de forma rotineira. Prepare as lâminas do teste ThinPrep Pap de acordo com as instruções do Hologic.

**Nota: Um mínimo de 4 ml de solução PreservCyt deve ser processado para teste.**

As amostras na solução PreservCyt podem ser guardadas por até três meses a temperaturas entre 2°C e 30°C depois da coleta e antes do processamento para o *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test. As amostras na solução PreservCyt não podem ser congeladas. Para processar essas amostras, o *digene* HC2 Sample Conversion Kit é necessário. Para o procedimento de processamento, consulte o kit de conversão de amostras *digene* HC2 na seção **Processamento e desnaturação da amostra na solução PreservCyt deste procedimento de aplicação.**

## III. Processamento de amostra

### Centrífuga e racks para tubos de várias amostras

A centrífuga 2 de tubo de várias amostras, o rack e a tampa adequados e os componentes acessórios são necessários para preparação, processamento e desnaturação da amostra. Três designs diferentes de rack de amostras estão disponíveis. Os designs dos racks de amostras permitem que o laboratório personalize seus testes. Os nomes e a aplicação dos racks são apresentados na tabela abaixo. Os racks de amostras são codificados por cor para diferenciar os modelos de rack.

**Tabela 2**

**Descrição dos racks de amostras**

Nome da amostra do rack	Cor do rack Chave	Tipo de acomodações do Specimen Rack
<i>digene</i> Specimen Rack	Azul	Amostras coletadas no STM (dispositivo de coleta de DNA <i>digene</i> HC2). Esse rack contém posições para dois calibradores positivos. Deve ser usado apenas com a centrífuga 2 do MST.
Conversion Rack	Prata	Amostras de paciente coletadas na solução PreservCyt Essas amostras exigem processamento, antes do teste de DNA <i>digene</i> HC2. Amostras na solução PreservCyt são amostras convertidas. O rack acomoda tubos cônicos de 15 ml das marcas VWR® ou Corning®. <b>Deve ser usado apenas com a centrífuga 2 do MST.</b>

### Preparação de amostras e racks

1. Remova as amostras e todos os reagentes necessários da geladeira ou do freezer, antes de começar o ensaio. Aguarde até que eles se equilibrem com a temperatura ambiente (20-25°C).

#### Notas:

- Para amostras na solução PreservCyt que já tenham sido processadas, desnaturadas e armazenadas congeladas, remova as tampas dos tubos descongelados e reaplique DuraSeal™ e o Conversion Rack Lid. O rack deve ser centrifugado por 10 segundos na centrífuga 2 do MST, antes da transferência de amostras no RCS.
- O Conversion Rack e a tampa não podem ser usados para centrifugar calibradores de kits ou controles de qualidade. A altura dos tubos STM impede a centrifugação adequada usando o Conversion Rack. Coloque os calibradores e controles desnaturados e centrifugados na posição adequada no Conversion Rack, antes de colocar o rack na estação de pipetagem do RCS.

2. Rotule cada *digene* Specimen Rack, Conversion Rack e a tampa correspondente, de acordo com a ordem que serão testados no RCS. Certifique-se de usar um rótulo e um marcador que não sairão em um banho-maria a 65°C (consulte a seção *Reagente e materiais necessários*)

#### Notas:

- Cada *digene* Specimen Rack e Conversion Rack tem um número de série. O número de série é gravado no rack e na tampa. Os números de série do rack de amostras e da tampa devem corresponder. Coloque etiquetas adequadas.
- Até quatro racks de 88 amostras cada podem ser testados por execução do RCS. Para ensaios com uma única sonda, os racks são rotulados de 1 a 4 e devem ser enchidos e carregados no RCS nessa ordem. Lembre-se de incluir o calibrador e os controles do kit com cada rack.

3. Use o sistema de software *digene* HC2 para inserir os IDs de amostras e criar layouts de placas para cada rack de amostras. (Consulte o Manual do usuário do Hybrid Capture 2 System [*Hybrid Capture 2 System User Manual*] para obter instruções.) **É fundamental que o layout da placa da amostra corresponda ao rack de amostras correto, para evitar o informe de resultados de amostras imprecisos.**

**Nota:** Os protocolos do ensaio *digene* HC2 devem ser usados para criar o modelo de amostras/calibrador/controle. **Para a aplicação do instrumento do Rapid Capture System, o protocolo do ensaio HC2 HPV RCS foi programado para aplicar um fator de ajuste da calibração (Calibration Adjustment Factor, CAF) de 0,8 ao valor médio de RLU das réplicas do calibrador de positivos válido. Esse CAF é necessário para que as características de desempenho do ensaio permaneçam equivalentes ao procedimento de teste manual.** Essa alteração se aplica somente a ensaios realizados usando o instrumento do Rapid Capture System. Portanto, é fundamental selecionar o protocolo de ensaio correto para uso com cada método de teste específico, para gerar resultados de testes precisos. Consulte o Manual do usuário do software *digene* H2 System (*digene* H2 System Software User Manual) para obter informações mais detalhadas.

4. Remova e descarte as tampas dos calibradores positivos e negativos, dos controles de qualidade e das amostras a serem testadas.

**Nota:** As tampas removidas dos tubos de amostras são consideradas potencialmente infecciosas. Descarte o material infeccioso de acordo com as regulamentações locais, estaduais e federais.

5. Os calibradores negativo e positivo e os controles de qualidade são necessários para cada rack de amostras a ser testado. O RCS distribui o calibrador de positivos e negativo três vezes para a primeira coluna para cada placa de amostras testadas. Os controles de qualidade e as amostras são testados individualmente.
6. **Para cada *digene* Specimen Rack (azul) e Conversion Rack (prata),** coloque o calibrador de negativos na posição A1 e o calibrador de HPV de alto risco (calibrador de positivos) na posição D1 do rack adequado. Coloque o controle de qualidade de HPV de baixo risco (QC1-LR) no G1 e o Controle de qualidade de HPV de alto risco (QC2-HR) na posição H1 do rack adequado. O RCS irá distribuir o calibrador de negativos, o calibrador de positivos e os controles de qualidade, além das amostras a serem testadas. Calibradores, controles e amostras são executados em uma configuração

de coluna de oito micropoços. (Os locais descritos na frase a seguir se referem a locais em uma microplaca, e não em um rack agitador.) O RCS coloca as réplicas do calibrador de negativos (CN) em A1, B1, C1, o calibrador de positivos (CP) em D1, E1, F1; QC1-LR em G1 e QC2-HR em H1. O RCS coloca amostras começando em A2.

Consulte o Exemplo 1 para o layout do *digene* Specimen Rack e o Exemplo 2 para o layout do Conversion Rack.

**Nota:** O Conversion Rack e o *digene* Specimen Rack têm uma posição para um segundo calibrador de positivos. É importante colocar o calibrador de positivos na posição D1 para obter resultados de ensaio válidos. **Não** coloque o calibrador de positivos na posição E1.

- Vá para Solução PreservCyt, processamento e desnaturação de amostra (Seção C) ou Desnaturação das amostras do dispositivo de coleta de DNA *digene* HC2 depois de as amostras terem sido colocadas no rack adequado e os layouts de placa terem sido criados.

**Nota:** O sistema de software *digene* HC2 relatará os resultados do calibrador e do controle, com base em seu local na placa, para verificar a execução do ensaio. A colocação adequada de calibradores e controles no rack e a seleção do protocolo de ensaio adequado são essenciais para resultados válidos do ensaio.

## EXEMPLO 1

### LAYOUT DO *digene* SPECIMEN RACK (1/2 rack exibido)

Linha	Coluna					
	1	2	3	4	5	6
A	NC	Amostra 1	Amostra 9	Amostra 17	Amostra 25	Amostra 33
B		Amostra 2	Amostra 10	Amostra 18	Amostra 26	Amostra 34
C		Amostra 3	Amostra 11	Amostra 19	Amostra 27	Amostra 35
D	PC 1	Amostra 4	Amostra 12	Amostra 20	Amostra 28	Amostra 36
E	VAZIA	Amostra 5	Amostra 13	Amostra 21	Amostra 29	Amostra 37
F		Amostra 6	Amostra 14	Amostra 22	Amostra 30	Amostra 38
G	QC1-LR	Amostra 7	Amostra 15	Amostra 23	Amostra 31	Amostra 39
H	QC2-HR	Amostra 8	Amostra 16	Amostra 24	Amostra 32	Amostra 40

- O *digene* Specimen Rack foi projetado para emular uma placa de 96 poços.
- A coluna 1 do *digene* Specimen Rack foi criado com cinco posições para um calibrador de negativos, até dois calibradores positivos e dois controles de qualidade.
- As 11 colunas remanescentes podem acomodar até 88 amostras *digene*.

## EXEMPLO 2

### LAYOUT DO CONVERSION RACK (1/2 rack exibido)

Linha	Coluna					
	1	2	3	4	5	6
A	NC	Amostra 1	Amostra 9	Amostra 17	Amostra 25	Amostra 33
B		Amostra 2	Amostra 10	Amostra 18	Amostra 26	Amostra 34
C		Amostra 3	Amostra 11	Amostra 19	Amostra 27	Amostra 35

D	CP	Amostra 4	Amostra 12	Amostra 20	Amostra 28	Amostra 36
E	VAZIA	Amostra 5	Amostra 13	Amostra 21	Amostra 29	Amostra 37
F		Amostra 6	Amostra 14	Amostra 22	Amostra 30	Amostra 38
G	QC1-LR	Amostra 7	Amostra 15	Amostra 23	Amostra 31	Amostra 39
H	QC2-HR	Amostra 8	Amostra 16	Amostra 24	Amostra 32	Amostra 40

- O Conversion Rack foi criado para imitar uma placa de 96 poços para amostras PreservCyt processadas em tubos cônicos de 15 ml.
- A coluna 1 do Conversion Rack foi criada com cinco posições, para acomodar os tubos de amostra *digene* STM para um calibrador de negativos, até dois calibradores positivos e dois controles de qualidade.
- As 11 colunas restantes podem acomodar até 88 amostras.
- As posições nas colunas 2 a 12 acomodam tubos cônicos de 15 ml e não contêm tubos de amostra *digene*.
- Os calibradores e controles de qualidade não podem ser centrifugados no Conversion rack. Eles devem ser centrifugados separadamente e colocados no rack, depois do processamento da solução PreservCyt.

## Processamento e desnaturação de amostras da solução PreservCyt

**As amostras podem conter agentes infecciosos e devem ser manuseadas adequadamente.**

Os seguintes materiais são necessários:

- Rack e tampa de conversão (prata)
- Kit de conversão de amostras *digene* HC2
- Tubos cônicos de polipropileno de 15 ml da marca VWR® ou Corning®
- Centrífuga 2 do tubo de várias amostras e acessórios
- Para materiais adicionais, consulte o IFU do kit de conversão de amostras *digene* HC2 ou a seção Reagentes e materiais necessários deste manual de usuário.

### Notas:

- O processamento e a desnaturação de amostras PreservCyt são realizados off-line, fora do RCS.
- Um mínimo de 4 ml de solução PreservCyt deve ser processado e desnaturado, para produzir um resultado de teste no RCS.
- Cada 2 ml de solução PreservCyt que é processado e desnaturado proporciona material suficiente para um resultado de teste de DNA de HPV com a aplicação de RCS de HPV de alto risco *digene* HC2. No entanto, para contabilizar o volume nulo associado à etapa de transferência de amostras do RCS, um extra de 2 ml de solução PreservCyt deve ser processado, independentemente do número de testes a serem realizados. Por exemplo, processar o mínimo aceitável de 4 ml de solução PreservCyt fornece material suficiente para um resultado de teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2.
- Prepare amostras da solução PreservCyt em lotes de 36 ou menos, por meio das etapas de centrifugação e decantação. Isso é importante para manter a integridade do grânulo de célula durante a etapa de decantação.
- A centrífuga 2 do MST não pode ser usada para a etapa pré-centrifugação de mistura de amostras da solução PreservCyt com o tampão de conversão de amostras.



- Apenas tubos cônicos de 15 ml da marca VWR ou Corning podem ser usados com o Conversion Rack. Durante a centrifugação, apenas uma dessas duas marcas pode estar presente em um Conversion Rack a qualquer momento. Isso ocorre, devido a pequenas diferenças na sua altura.
- O Conversion Rack e a tampa não podem ser usados para centrifugar calibradores ou controles de qualidade. A altura dos tubos STM impede a centrifugação adequada usando o Conversion Rack.

### Preparação do reagente de desnaturação do kit de conversão de amostras *digene* HC2

Para preparar o reagente de desnaturação (Denaturation Reagent, DNR) do kit de conversão de amostras *digene* HC2, adicione três gotas de corante de indicador ao frasco de DNR e misture bem. A solução deverá ter uma cor roxo escuro uniforme. Depois de preparado, o DNR fica estável por três meses, quando armazenado a temperaturas entre 2°C e 8°C. Rotule o frasco com a nova data de validade. Se a cor desbotar, adicione três gotas de corante de indicador e misture bem.

No procedimento a seguir, 4 ml de alíquotas de solução PreservCyt são processadas, produzindo material suficiente para um teste por amostra. Volumes alternativos podem ser processados, de acordo com a Tabela 3.

**Tabela 3**

#### Volumes de processamento de PreservCyt necessários

Número de testes	Volume de PreservCyt	Volume do tampão de conversão
1	4 ml	0,4 ml
2	6 ml	0,6 ml
3	8 ml	0,8 ml
4	10 ml	1,0 ml
5	12 ml	1,2 ml

1. Rotule os tubos cônicos de 15 ml da marca VWR ou Corning com o número de identificação de amostra adequado.
2. Manuseio de uma única amostra por vez:
  - 2a. Agite, vigorosamente, o frasco de PreservCyt com a mão ou na centrífuga por cinco a dez segundos, para suspender novamente as células e garantir a homogeneidade.
  - 2b. Imediatamente, pois as células se acomodam rapidamente, pipete o volume adequado da amostra PreservCyt existente no tubo rotulado. Coloque a solução PreservCyt na parte inferior do tubo cônico, para evitar que material celular grude na parte interna do tubo.
3. Adicione o volume adequado de tampão de conversão de amostra em cada tubo (consulte a Tabela 3 acima).
4. Coloque uma tampa de rosca em cada tubo. Rotule as tampas para indicar o ID da amostra.
5. Misture o conteúdo de cada tubo completamente, usando uma centrífuga com fixação de copo.
6. Centrifugue os tubos em um rotor de balde balançante a  $2.900 \pm 150 \times g$  por  $15 \pm 2$  minutos.
7. Durante a centrifugação, prepare a mistura meio de transporte de amostra (STM) / Reagente de desnaturação (DNR) e, uma proporção de 2:1, de acordo com a Tabela 4.

**Nota: A solução deve ser preparada fresca, todos os dias.**

- 7a. Para determinar o volume total de mistura STM / DNR necessário, use o volume inicial da amostra da solução PreservCyt como guia e, em seguida, multiplique os volumes "por tubo" de STM e DNR pelo número de amostras a serem processadas.

Tabela 4

Volumes de reagente de desnaturação/STM necessários

Número de testes	Volume de PreservCyt	Volume de STM por tubo	Volume de DNR por tubo	Mistura de STM + DNR adicionada por tubo
1	4 ml	120 µl	60 µl	150 µl
2	6 ml	170 µl	85 µl	225 µl
3	8 ml	220 µl	110 µl	300 µl
4	10 ml	270 µl	135 µl	375 µl
5	12 ml	320 µl	160 µl	450 µl

- 7b. Misture a solução completamente com a centrífuga.
8. Remova os tubos da centrífuga, um de cada vez, e coloque dentro de um Conversion Rack. Um grânulo rosa/laranja deverá estar presente na parte inferior de cada tubo.
9. Manuseie cada tubo individualmente:
- Remova a tampa e coloque-a de lado em uma toalha de papel limpa e sem fiapos.
  - 9a. Decante, cuidadosamente, o sobrenadante.
  - 9b. Mantenha a posição do tubo invertida e remova o excesso com cuidado (por aproximadamente seis vezes), em toalhas de papel absorventes com pouco fiapo para remover o líquido em excesso. Use uma área limpa da toalha a cada vez. **Não deixe** o grânulo de célula escorrer pelo tubo durante a secagem do excesso.
  - 9c. Coloque o tubo no Conversion Rack.
- Notas:**
- O Conversion Rack e a tampa foram criados para acomodar apenas tubos cônicos de 15 ml da marca VWR ou Corning.
  - A adesão rigorosa aos tempos de centrifugação especificados é necessária.
10. Para obter a quantidade adequada de volume inicial da solução PreservCyt, adicione a quantidade adequada de STM + DNR a cada grânulo. (Exemplo: Para um volume inicial de 4-ml de PreservCyt, adicione uma mistura de 150 µl STM + DNR a cada grânulo). Consulte a Tabela 4 acima, ao processar volumes de amostras de solução PreservCyt diferentes de 4 ml.
11. Cubra os tubos cônicos de 15 ml com película DuraSeal™ puxando a película sobre os tubos no rack.
12. Coloque a tampa do rack sobre os tubos cobertos com película e trave a tampa no lugar com as travas existentes nos dois lados. Corte a película com o dispositivo de corte, depois que a tampa estiver firmemente presa.
13. Coloque o Conversion Rack e a tampa sobre a Centrífuga 2 do MS2, de forma a que o maior canto dentado do Conversion Rack esteja localizado no canto dianteiro direito. Fixe o rack com a braçadeira, empurrando na alavanca de alça vermelha.
14. Verifique se o ajuste de velocidade do motor é 100 (velocidade máxima) e o botão pulsador está na posição OFF.
15. Gire o botão Liga/Desliga da centrífuga para a posição ON (Ligado) e **centrifugue os tubos por 30 segundos**.
16. Erga a alavanca de alça vermelha para soltar o rack.
17. Coloque o rack no banho-maria  $65 \pm 2^\circ\text{C}$  durante  $15 \pm 2$  minutos.
18. Depois da incubação de 15 minutos, remova o rack do banho-maria e coloque-o em toalhas de papel para drenar a água em excesso e evitar, assim, respingos, durante a centrifugação.

19. Coloque o Conversion Rack sobre a centrífuga do MST, de forma a que o maior canto dentado do rack esteja localizado no canto dianteiro direito. Fixe o rack com a braçadeira, empurrando na alavanca de alça vermelha.
20. Verifique se o ajuste de velocidade do motor é 100 (velocidade máxima) e o botão pulsador está na posição OFF.
21. Gire o botão Liga/Desliga da centrífuga para a posição ON (Ligado) e centrifugue os tubos por um minuto.
22. Erga a alavanca de alça vermelha para soltar o rack.
23. Coloque o rack de volta no banho-maria  $65 \pm 2^\circ\text{C}$  e continue a desnaturação por mais e  $30 \pm 3$  minutos.
24. Remova o rack do banho-maria e coloque-o sobre toalhas de papel para drenar o excesso de água.
25. Coloque o Conversion Rack sobre a centrífuga do MST, de forma a que o maior canto dentado do rack esteja localizado no canto dianteiro direito. Fixe o rack com a braçadeira, empurrando na alavanca de alça vermelha.
26. Verifique se o ajuste de velocidade do motor é 100 (velocidade máxima) e o botão pulsador está na posição OFF (Desligado).
27. Gire o botão Liga/Desliga da centrífuga para a posição ON (Ligado) e centrifugue os tubos por dez segundos.
28. Remova imediatamente a tampa do rack e a película DuraSeal e vá para os testes do RCS ou armazene como indicado abaixo.

#### **Ponto de parada opcional:**

Depois da desnaturação, as amostras podem ser armazenadas a  $2^\circ\text{C} - 8^\circ\text{C}$  durante a noite ou a  $-20^\circ\text{C}$  por até três meses. Para refrigeração durante a noite, as amostras devem ser deixadas no Conversion Rack com nova película DuraSeal e a tampa do rack substituída. Antes do armazenamento a  $-20^\circ\text{C}$ , a tampa do rack e a película DuraSeal devem ser removidas e tampas devem ser colocadas nos tubos. Se o procedimento de centrifugação tiver sido usado, coloque o rack de tubos tampados na temperatura de armazenamento desejada. Em qualquer um dos casos, as amostras deverão ser equilibradas à temperatura ambiente ( $20^\circ\text{C} - 25^\circ\text{C}$ ) e centrifugadas completamente, antes de ir para a etapa de hibridização.

**Nota:** Não armazene nem envie amostras desnaturadas em gelo seco.

#### ***Teste de DNA de HPV de alto risco digene HC2* [REF 5199-1220 (kit com uma placa)]**

Um máximo de três ciclos de congelamento/descongelamento pode ser realizado com um máximo de duas horas à temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelamento. Para as amostras processadas usando a centrífuga 2 do MST, remova a tampa do rack e a película de vedação DuraSeal dos tubos e tampe cada tubo com uma tampa de rosca, antes de armazenar amostras a  $-20^\circ\text{C}$ .

#### ***Teste de DNA de HPV de alto risco digene* [REF 5199-00016 (kit com quatro placas)]**

Um máximo de um ciclo de congelamento/descongelamento para calibradores e controles de kits pode ser realizado com um máximo de duas horas à temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelamento. Um máximo de três ciclos de congelamento/descongelamento pode ser realizado com um máximo de duas horas à temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelamento. Para as amostras processadas usando a centrífuga 2 do MST, remova a tampa do rack e o lacre de tubo DuraSeal dos tubos e tampe cada tubo com uma tampa de rosca, antes de armazenar amostras a  $-20^\circ\text{C}$ . **O kit foi criado para uso de alto volume no Rapid Capture System e deve ser consumido em  $\leq 2$  execuções do Rapid Capture System, para obter todos os 384 testes.** A execução de placas parciais fora dos formatos sugeridos pode resultar em menos de 384 testes, devido a volumes limitados de sonda de HPV de alto risco e de diluente de sonda.

## Desnaturação de amostras do dispositivo de coleta de DNA *digene* HC2, calibradores e controles do kit

### Notas:

- **Aviso:** O reagente de desnaturação é corrosivo. Use roupas de proteção, luvas e proteção para os olhos/face adequadas. Tenha cuidado ao manuseá-lo. Descarte os materiais corrosivos de acordo com as leis locais, estaduais e federais.
- **Importante:** Algumas amostras podem conter sangue ou outro material biológico que pode ocultar as alterações de cor após a adição do reagente de desnaturação e da mistura de sonda. As amostras que apresentarem uma cor escura antes da adição do reagente de desnaturação podem não exibir as alterações de cor adequadas nessas etapas. Nesses casos, a falha em exibir a mudança de cor adequada não afetará os resultados do ensaio. A mistura adequada pode ser verificada, observando a mudança de cor dos calibradores e dos controles.
- Não remova a escova do dispositivo de coleta de DNA *digene* HC2 antes da desnaturação.
- Durante a etapa de desnaturação, confirme se o nível da água no banho-maria está adequado para submergir todo o volume de amostras no tubo.
- As amostras podem ser preparadas até a etapa de desnaturação e armazenadas a 2-8°C de um dia para o outro ou a -20°C por até 3 meses. Um máximo de três ciclos de congelamento/descongelamento pode ser realizado com um máximo de duas horas à temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelamento. Centrifugue bem, antes de usar.
- Para evitar resultados falso-positivos, é fundamental que todo material do calibrador, do controle e da amostra entrem em contato com o reagente de desnaturação. A centrifugação depois da adição do reagente de desnaturação é uma etapa fundamental. **Certifique-se de que o MST Vortexer 2 esteja na configuração 100 (velocidade máxima) e de que o botão Pulsar (Pulsar) esteja desligado.**
- Após a desnaturação e a incubação, as amostras não devem mais ser consideradas infecciosas. No entanto, a equipe do laboratório ainda deve seguir as precauções universais.

Consulte a seção *Preparação do reagente* deste manual do usuário para obter instruções sobre preparação do reagente de desnaturação.

1. Pipete o reagente de desnaturação com corante indicador em cada calibrador, controle ou amostra, usando um pipetador de repetição ou ajustável. Tome cuidado para não tocar as laterais do tubo para evitar a contaminação cruzada de amostras. O volume do reagente de desnaturação necessário é equivalente à metade do volume da amostra. O volume exato para cada tipo de calibrador, controle e amostra está listado na tabela a seguir.

### Tabela 5

Volumes de desnaturação necessários para calibradores, controles e amostras

*Teste de DNA de HPV de alto risco digene* HC2 [ [REF](#) 5199-1220 (kit com uma placa)]

Calibrador, controle de qualidade ou amostra	Volume de reagente de desnaturação necessário
Calibrador de negativos	1000 µl
<b>Calibrador de HPV de alto risco</b>	500 µl*
Controles de qualidade de HPV de alto risco ou de baixo risco	500 µl*
Amostra cervical	500 µl*

**Teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 [ REF 5199-00016 (kit com quatro placas)]**

Calibrador, controle de qualidade ou amostra	Volume de reagente de desnaturação necessário
Calibrador de negativos	1000 µl
<b>Calibrador de HPV de alto risco</b>	1000 µl
Controles de qualidade de HPV de alto risco ou de baixo risco	500 µl*
Amostra cervical	500 µl*

\*Se estiver usando uma pipeta repetidora Eppendorf, use uma ponta de 12,5-ml e uma definição de pipetador de 2.

- Dilua o restante do reagente de desnaturação no recipiente antes de descartá-lo. Descarte em conformidade com as leis locais, estaduais e federais.
2. Misture as amostras usando a centrífuga do MST.  
Cubra os tubos do calibrador/controle/amostra com película DuraSeal puxando a película sobre os tubos no rack. Coloque a(s) tampa(s) do rack sobre os tubos cobertos com película e trave a tampa no lugar com as travas existentes nos dois lados. Corte a película com o dispositivo de corte, depois que a tampa estiver firmemente presa.
  3. Coloque o rack sobre a centrífuga 2 do MST, de forma a que o maior canto dentado do rack esteja localizado no canto dianteiro direito. Fixe o rack com a braçadeira, empurrando na alavanca de alça vermelha.
  4. Verifique se o ajuste de velocidade do motor é 100 (velocidade máxima) e o botão pulsador está na posição OFF.
  5. Gire o botão Liga/Desliga da centrífuga para a posição ON (Ligado) e centrifugue os tubos por 10 segundos. Os calibradores, os controles e amostras devem ficar roxos.
  6. Erga a alavanca de alça vermelha para soltar o rack.
  7. Incube os tubos em cada rack em um banho de 65°C ± 2°C durante 45 ± 5 minutos.
  8. Prepare os reagentes e configure o deck do Rapid Capture System durante a desnaturação da amostra.
  9. Depois da incubação de 45 minutos, remova o rack com amostras do banho-maria. Calibradores, controles e amostras desnaturados podem ser centrifugados e testados imediatamente ou armazenados, conforme descrito no **Optional Stop Point** (Ponto de parada opcional) a seguir.
  10. Logo em seguida, coloque o rack com a etiqueta 1 no MST Vortexer 2 e agite por no mínimo 10 segundos na velocidade 100 (máxima) do motor.
  11. Rapidamente, coloque o rack sobre a bancada e solte as travas. Erga a tampa do rack ~1 cm e mova-a com cuidado para a esquerda e a direita para liberar os tubos de amostras que possam ter aderido ao filme DuraSeal. Remova a tampa erguendo-a em linha reta até liberar a base do rack.
  12. Retire o filme DuraSeal da tampa com cuidado e descarte-o.
  13. Repita as etapas 9-12 para os racks de amostras restantes.

**Ponto de parada opcional:**

Depois da desnaturação, as amostras podem ser armazenadas a 2°C - 8°C durante a noite ou a -20°C por até três meses. Para refrigeração durante a noite, as amostras devem ser deixadas no *digene* Specimen Rack com nova película DuraSeal e a tampa do rack substituída. Antes do armazenamento a -20°C, a tampa do rack e a película DuraSeal devem ser removidas e tampas devem ser colocadas nos tubos. Se o procedimento de centrifugação tiver sido usado, coloque o rack de tubos tampados na temperatura de armazenamento desejada. Em qualquer um dos casos, as amostras

deverão ser equilibradas à temperatura ambiente (20°C - 25°C) e centrifugadas completamente, antes de ir para a etapa de hibridização.

Nota: Não armazene nem envie amostras desnaturadas em gelo seco.

#### **Teste de DNA de HPV de alto risco digene HC2 [REF 5199-1220 (kit com uma placa)]**

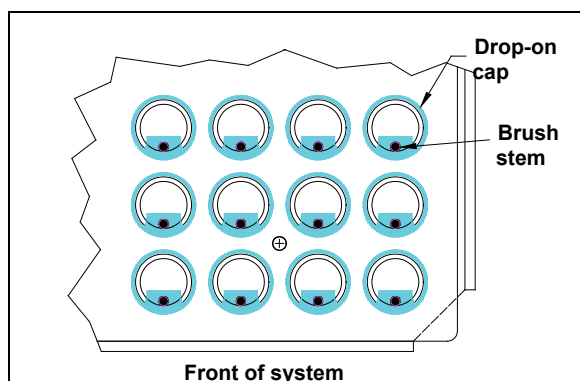
Um máximo de três ciclos de congelamento/descongelamento pode ser realizado com um máximo de duas horas à temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelamento. Para as amostras processadas usando a centrífuga 2 do MST, remova a tampa do rack e a película de vedação DuraSeal dos tubos e tampe cada tubo com uma tampa de rosca, antes de armazenar amostras a -20°C.

#### **Teste de DNA de HPV de alto risco digene [REF 5199-00016 (kit com quatro placas)]**

Um máximo de um ciclo de congelamento/descongelamento para calibradores e controles de kits pode ser realizado com um máximo de duas horas à temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelamento. Um máximo de três ciclos de congelamento/descongelamento pode ser realizado com um máximo de duas horas à temperatura ambiente durante cada ciclo de descongelamento. Para as amostras processadas usando a centrífuga 2 do MST, remova a tampa do rack e o lacre de tubo DuraSeal dos tubos e tampe cada tubo com uma tampa de rosca, antes de armazenar amostras a -20°C. **O kit foi criado para uso de alto volume no Rapid Capture System e deve ser consumido em ≤2 execuções do Rapid Capture System, para obter todos os 384 testes.** A execução de placas parciais fora dos formatos sugeridos pode resultar em menos de 384 testes, devido a volumes limitados de sonda de HPV de alto risco e de diluente de sonda.

14. Ao colocar o rack no RCS, coloque o rack, de forma que o calibrador de negativos esteja no canto direito superior. No rack de amostra 1, coloque uma tampa tipo conta-gotas em cada tubo que contém uma escova. Certifique-se de que a haste do dispositivo de coleta fique presa entre a aba da tampa de encaixe e a lateral do tubo de amostra. As tampas tipo conta-gotas devem ser colocadas, de forma que a guia fique mais próxima ao usuário, conforme eles olham para o rack (Figura 1).

**Figura 1. Orientação das tampas de encaixe**



# PREPARAÇÃO DO REAGENTE

A tabela a seguir detalha os volumes necessários para execuções de várias placas para testes de alto volume.

<p><i>digene</i> HC2 High-Risk HPV DNA Test Denaturation Reagent</p>	<p>PREPARE PRIMEIRO:</p> <p><b>Aviso:</b> O reagente de desnaturação é corrosivo. Use roupa protetora adequada, luvas e proteção para os olhos/rosto. Tome cuidado ao remover a tampa do frasco e ao manusear.</p> <p><b>Teste de DNA de HPV de alto risco <i>digene</i> HC2 [ REF 5199-1220 (kit com uma placa)]</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Adicione cinco gotas de corante de indicador ao frasco de reagente de desnaturação e misture completamente. O reagente de desnaturação deverá ter uma cor roxa escura uniforme.</li></ul> <p><b>Teste de DNA de HPV de alto risco <i>digene</i> [ REF 5199-00016 (kit com quatro placas)]</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Adicione dez gotas de corante de indicador a cada frasco de reagente de desnaturação e misture completamente. O reagente de desnaturação deverá ter uma cor roxa escura uniforme.</li></ul> <p>Depois de preparado, o reagente de desnaturação fica estável por três meses, quando armazenado a 2°C a 8°C. Rotule-o com a nova data de validade. Se a cor desbotar, adicione três gotas de corante indicador e misture completamente, antes de usar.</p>
<p>Coquetel de sondas de HPV de alto risco</p> <p><b>(PREPARAR UMA SOLUÇÃO FRESCA TODOS OS DIAS)</b></p>	<p><b>CUIDADO:</b> O diluente da sonda pode provocar irritação nos olhos. Use proteção para os olhos/face.</p> <p><b>CUIDADO:</b> O máximo de cuidado deve ser tomado nessa etapa, para evitar a contaminação da sonda e da mistura de sondas com RNase. Use pontas de pipeta com barreira contra aerossol para a pipetar a sonda. O diluente da sonda é viscoso. <b>Deve-se tomar cuidado para garantir a centrifugação completa, ao preparar a mistura de sondas. Deve-se formar um vórtex visível no líquido durante a etapa de mistura. A formação incompleta de redemoinho pode resultar em sinal reduzido.</b></p> <p><b>NOTA:</b> Sondas e reagentes só podem ser combinados se forem do mesmo lote de kits.</p> <p><b>NOTA:</b> Há 384 testes no teste de DNA de HPV de alto risco <i>digene</i> [ REF 5199-00016 (kit com quatro placas)]. O menor volume de poços que podem ser executados em um único uso é 96. <b>O kit foi criado para uso de alto volume no Rapid Capture System e deve ser consumido em ≤2 execuções do Rapid Capture System, para obter todos os 384 testes.</b> A execução de &lt;1 placa ou placas parciais fora dos formatos sugeridos pode resultar em menos de 384 testes, devido a volumes limitados de sonda e de diluente de sonda.</p> <p><b>IMPORTANTE: ALGUMAS VEZES, A SONDA FICA PRESA NA TAMPA DO FRASCO</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Centrifugue cada frasco da sonda de HPV de alto risco brevemente, para levar líquido ao fundo do frasco. Bata de leve no tubo para misturar.</li><li>• Determine a quantidade necessária de mistura de sondas para cada coquetel de sondas, usando a tabela a seguir. É necessária uma quantidade extra de mistura de sonda para contabilizar o volume morto necessário nos reservatórios de reagentes no Rapid Capture System, a qual está incluída na tabela. O menor número de poços recomendado para cada uso é 96 ou uma microplaca.</li></ul>

- Transfira a quantidade necessária de diluente de sonda para um tubo cônico de polipropileno. Faça uma diluição de 1:25 de sonda em diluente de sonda, para preparar a mistura de sondas usando a tabela a seguir

Número de placas	Volume sonda diluente*	Volume sonda*
1	5,0 ml	200 µl
≤ 1,5	6,0 ml	240 µl
≤ 2	7,5 ml	300 µl
≤ 2,5	9,0 ml	360 µl
≤ 3	10,0 ml	400 µl
≤ 3,5	12,0 ml	480 µl
≤ 4	13,0 ml	520 µl

\* Esses valores incluem o volume extra recomendado.

- Pipete a sonda de HPV de alto risco no diluente da sonda, colocando a ponta da pipeta contra a parede interna do tubo, bem acima do menisco e expelindo o conteúdo. **Não submerja a ponta no diluente da sonda.**
- Centrifugue por pelo menos cinco segundos à velocidade máxima, para misturar completamente. **Um redemoinho visível deve ser produzido.** Rotule como "Coquetel de sondas de HPV de alto risco". **A mistura de sondas não usada deve ser descartada.** Não armazene o coquetel de sondas para uso futuro.

#### Tampão de lavagem

**Aviso:** O concentrado de tampão de lavagem é tóxico, se ingerido. Use roupas de proteção, luvas e proteção para os olhos/face adequadas. Para minimizar a exposição, adicione água ao concentrado de tampão de lavagem na preparação.

Para o Rapid Capture System, o tampão de lavagem pode ser preparado conforme a descrição abaixo e armazenado no recipiente de lavagem a 20-25°C. Consulte a tabela abaixo para misturar os volumes:

Nº de placas	Quantidade de concentrado de tampão de lavagem	Quantidade de água destilada/deionizada	Volume final de 1 X tampão de Lavagem*
≤ 2	100 ml	2,9 L	3 l
> 2	200 ml	5,8 L	6 l

\*Esses valores incluem o volume extra recomendado necessário para preencher o volume nulo de 300-ml de frasco.

**Nota:** O tampão de lavagem preparado permanece estável por três meses a 2-30°C. Rotule com a nova data de validade. Se o tampão de Lavagem tiver sido refrigerado, equilibre a temperaturas entre 20°C e 25°C, antes de usar.



## VOLUMES PARA REAGENTES PRONTOS PARA USO

<b>Reagente de detecção 1 e Reagente de detecção 2</b>	Defina o volume do Reagente de detecção 1 ou do Reagente de detecção 2 necessário para a execução. O tamanho mínimo de execução é uma placa. Para uma placa, mais placas parciais, use os volumes indicados na tabela a seguir																
	Misture completamente os frascos de reagentes individuais e, em seguida, combine o volume adequado de reagente de detecção 1 ou reagente de detecção 2 em um tubo cônico de polipropileno descartável limpo. Misture completamente. Verta todo o conteúdo no reservatório de reagente designado. Para evitar contaminação, esses reagentes <b>não devem</b> ser devolvidos aos recipientes originais. <b>Descarte o material residual não usado na canaleta ou no tubo cônico, depois do uso.</b>																
	<table><thead><tr><th>Nº de placas</th><th>Volume mínimo para os reagentes de detecção 1 e 2</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>10 ml</td></tr><tr><td>≤ 1,5</td><td>14 ml</td></tr><tr><td>≤ 2</td><td>18 ml</td></tr><tr><td>≤ 2,5</td><td>22 ml</td></tr><tr><td>≤ 3</td><td>26 ml</td></tr><tr><td>≤ 3,5</td><td>30 ml</td></tr><tr><td>≤ 4</td><td>34 ml</td></tr></tbody></table>	Nº de placas	Volume mínimo para os reagentes de detecção 1 e 2	1	10 ml	≤ 1,5	14 ml	≤ 2	18 ml	≤ 2,5	22 ml	≤ 3	26 ml	≤ 3,5	30 ml	≤ 4	34 ml
Nº de placas	Volume mínimo para os reagentes de detecção 1 e 2																
1	10 ml																
≤ 1,5	14 ml																
≤ 2	18 ml																
≤ 2,5	22 ml																
≤ 3	26 ml																
≤ 3,5	30 ml																
≤ 4	34 ml																

## IV. Preparação da plataforma do Rapid Capture System

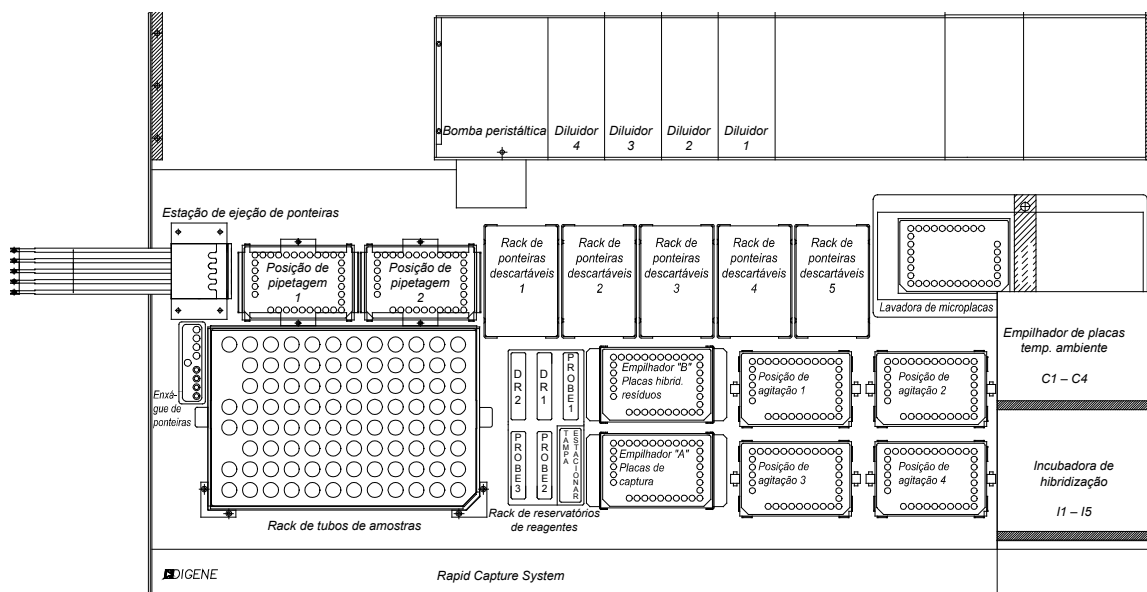


Lave com água destilada/deionizada, antes do primeiro uso todos os dias, executando o script "FLUSH" duas vezes, depois de inicializar o sistema. Certifique-se de que todas as bolhas de ar sejam removidas das linhas do sistema. Falha ao concluir uma lavagem do sistema pode resultar em volumes de alíquotas distribuídos.

### Notas:

- Consulte a seção Manual do software Rapid Capture ScriptSelect deste manual de aplicativo, para ajudar a escolher o script correto para a execução específica do RCS. O ScriptSelect Software permite que o usuário selecione o script adequado e o adicione à lista de execução do RCS.
- Use luvas descartáveis e sem pó, durante a configuração do deck.

Figura 2: Layout do deck



## A. Preparação do deck

1. Inspeção a plataforma, incluindo todos os empilhadores e incubadoras, e remova placas, tampas ou outros itens diversos. Se a execução anterior tiver sido cancelada, inspeção a incubadora abrindo, manualmente, cada porta da câmara usando uma ponta de pipeta descartável. Se placas estiverem presentes, entre em contato com o representante QIAGEN local para obter instruções para remover a placa da incubadora. **A não remoção de todos esses itens pode resultar em dano ao RCS.**



**Cuidado:** A incubadora atinge uma temperatura definida de 65 °C.

2. Usando luvas descartáveis sem pó, encha todos os cinco racks de pontas descartáveis (disposable tip, DT) com bandejas de pontas descartáveis. **Ao carregar a bandeja de pontas descartáveis, o dente "em forma de u" da bandeja deverá ser posicionado na esquerda dianteira do rack.** A bandeja deverá encaixar no lugar. Se não se encaixar, remova a bandeja de pontas descartáveis do rack e puxe as guias centrais nas extremidades dianteira e traseira do rack, na direção do centro, para aumentar a tensão na bandeja. Substitua a bandeja de pontas descartáveis. Um alarme sonoro soará se houver falha em carregar as badejas de pontas descartáveis e uma caixa de diálogo aparecerá, indicando a necessidade de carregar pontas.
3. Numere a lateral dianteira das placas de hibridização 1 a 4. Coloque uma tampa em cada placa.
4. Coloque as placas de hibridização com tampas no agitador nas posições rotuladas correspondentes, S1 a S4. Certifique-se de que as placas de hibridização estejam na orientação correta, com A1 no canto esquerdo posterior e de que as placas estejam **posicionadas dentro das guias.**

5. Numere a lateral dianteira das placas de captura 1 a 4 para que correspondam. Se alguma placa possuir menos de 88 amostras, remova o número adequado de tiras de captura ou de poços da placa, devolva-os à embalagem de Mylar® original e armazene a 2-8°C. Substitua **todos** os poços que estiverem faltando na placa de captura por RCS Microplate Well Strips.
6. Empilhe as placas de captura em ordem numérica, com a placa número 1 por cima. Certifique-se de que cada placa esteja alinhada corretamente com a posição do poço A1 no canto posterior esquerdo. Coloque uma tampa **apenas** na placa 1 e coloque as placas no Empilhador A.



**CUIDADO: Risco de colisão da garra de placa** - Se as placas de hibridização ou de captura não estiverem presentes quando o instrumento tentar recuperá-las do agitador ou do Empilhador A, a garra de placa colidirá na posição de pipetagem. Uma colisão pode exibir que a execução seja reiniciada e/ou pode danificar o RCS.

7. Esvazie o frasco de resíduos líquidos.

**Nota: Certifique-se de que o recipiente de resíduos esteja vazio, antes de começar cada execução!** O recipiente de resíduos pode extravasar para a plataforma, causando transbordamento e contaminação por fosfatase alcalina. Sempre troque as luvas, depois de manusear o frasco de resíduos líquidos ou de ter qualquer possível contato com a solução de resíduo, incluindo contato com as conexões de liberação rápida, para evitar contaminação de áreas de trabalho com a fosfatase alcalina.

8. Rotule as canaletas e as tampas das canaletas de reagente, conforme necessário, para o RCS. É importante rotular as canaletas de reagente e separar os reagentes, para evitar possível contaminação de reagentes de uma execução para a outra. Depois de etiquetá-los, não utilize os reservatórios com outros reagentes. Recomenda-se manter dois conjuntos de reservatórios de reagentes, para que um conjunto seco e limpo sempre esteja disponível.

## B. Preparação do reagente para o Rapid Capture System

1. Encha o frasco de lavagem com 1x tampão de lavagem (consulte a seção *Preparação do reagente*). Certifique-se de que a válvula de liberação rápida se encaixe firmemente no lugar.



**CUIDADO:** Certifique-se de que o frasco de lavagem esteja adequadamente cheio, antes de cada execução.

2. Esvazie o frasco de líquido do sistema e o encha novamente com água destilada/deionizada fresca. Certifique-se de que a válvula de liberação rápida se encaixe firmemente no lugar.



**CUIDADO:** Certifique-se de que o frasco de líquido do sistema esteja adequadamente cheio, antes de cada execução.

3. Adicione a mistura de sondas preparada à canaleta designada de reagente(s) e coloque na posição adequada no rack da canaleta do reagente. Tampe as canaletas usando as tampas de canaletas correspondentes.

- Adicione o volume necessário do Reagente de detecção 1 ao reservatório de reagentes designado e coloque-o no poço central posterior do rack de reservatórios de reagentes. Tampe a canaleta usando a tampa correspondente (consulte a seção *Preparação e armazenamento do reagente e Layout do deck do RCS*, Figura 2).
- Adicione o volume necessário do Reagente de detecção 2 ao reservatório de reagentes designado e coloque-o no poço esquerdo posterior do rack de reservatórios de reagentes. Tampe a canaleta usando a tampa de canaleta correspondente (consulte a seção *Preparação e armazenamento do reagente e Layout do deck do RCS*, Figura 2).

**Notas:**

- Consulte a Figura 2: Layout do deck do RCS para o posicionamento adequado da sonda para a execução específica do RCS.
  - O RCS emprega sensores de nível de líquido, ao distribuir reagentes das canaletas de reagente para uma placa de captura ou de hibridização. No caso de volume insuficiente, o sistema pausará, exibirá uma caixa de diálogo indicando o problema e avisará o usuário com um alarme sonoro. O usuário pode, então, colocar o reservatório de reagente cheio na plataforma ou adicionar mais reagente, conforme o caso.
- Quando as amostras tiverem concluído a incubação para desnaturação de 45 minutos, recolha os racks do banho-maria e retire o excesso de água com toalhas de papel.

**Nota:** **NÃO** deixe que os racks de amostra esfriem até a temperatura ambiente, antes de remover a tampa do rack. Se ocorrer o resfriamento, os tubos podem aderir à tampa e vazarem posteriormente. Consulte a Seção C: *Processamento e desnaturação de amostras de solução PreservCyt* e D: *Desnaturação de amostras do dispositivo de coleta de DNA digene HC2, calibradores e controles do kit*

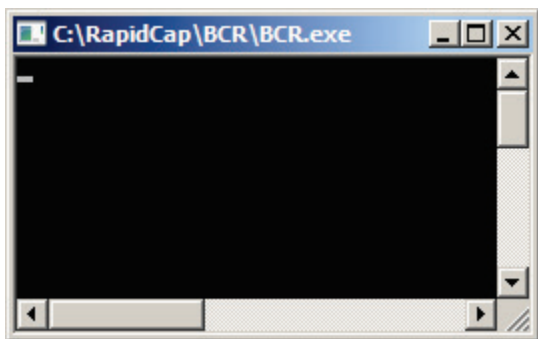
## V. Inicialização da execução do RCS

Siga os exemplos a seguir para iniciar uma execução do RCS.



**CUIDADO:** Não tente colocar a mão no instrumento, enquanto o manipulador de placas estiver se movendo. Pause o RCS pressionando a tecla **Escape** ou selecionando o ícone **“Abort Run”** e aguarde que uma caixa de diálogo de exibição apareça, antes de reajustar ou reposicionar as placas.

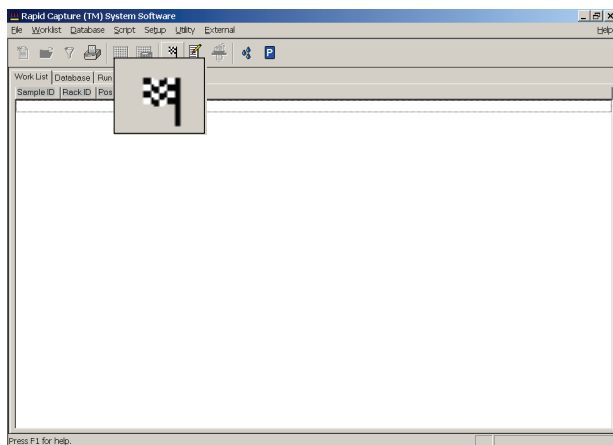
A atualização de código de barras inclui um aplicativo que salva os códigos de barras lidos para serem usados pelo sistema de software *digene* HC2. Enquanto o aplicativo de leitura de código de barras estiver em execução, uma janela de comando será exibida. Não feche a janela de comando. Ela será fechada automaticamente depois que o código de barras estiver salvo. Se a janela for fechada pelo usuário, o código de barras lido não será salvo.



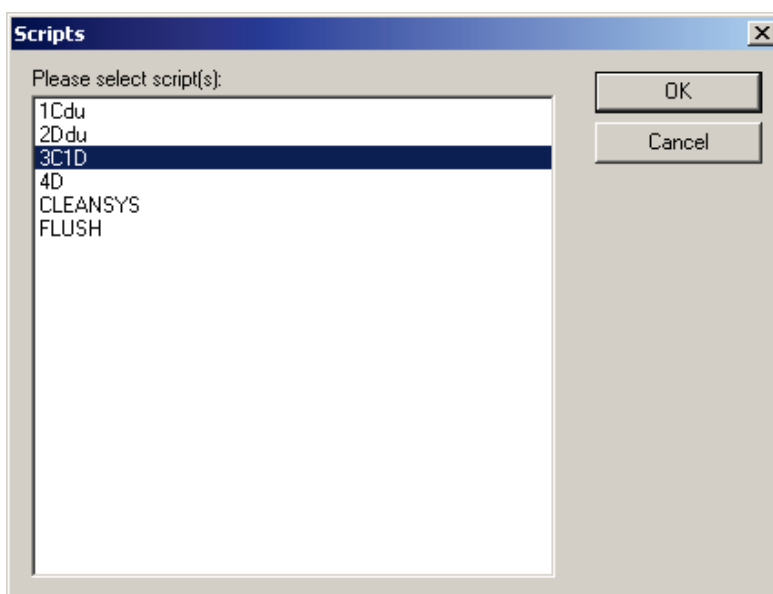
A atualização de código de barras inclui uma funcionalidade para garantir que a placa de captura lida corresponda à placa de captura correta. No entanto, é importante que os usuários não troquem a sequência das placas no RCS (por exemplo, durante uma recuperação de erro) para garantir que a associação entre a placa de captura e a placa de hibridização esteja correta. A associação de placa incorreta pode levar a resultados errôneos.

### Exemplo de execução do Rapid Capture System 1: Script 3C1D

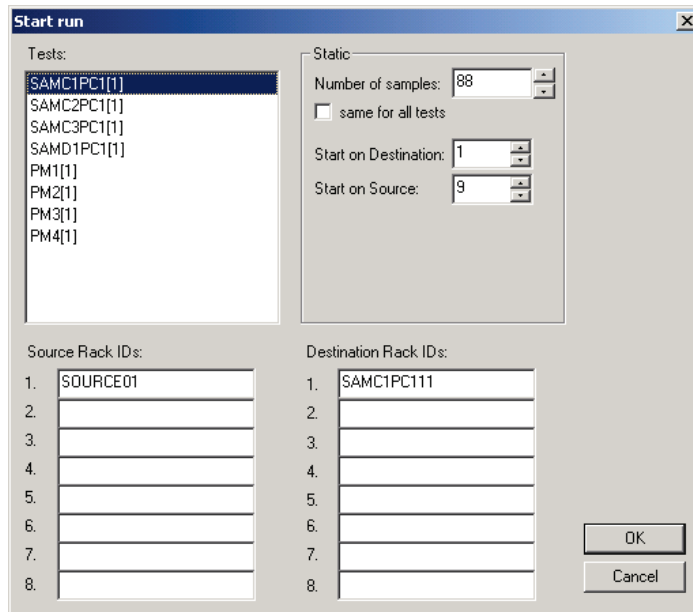
1. No software Rapid Capture System, clique no ícone da bandeira.



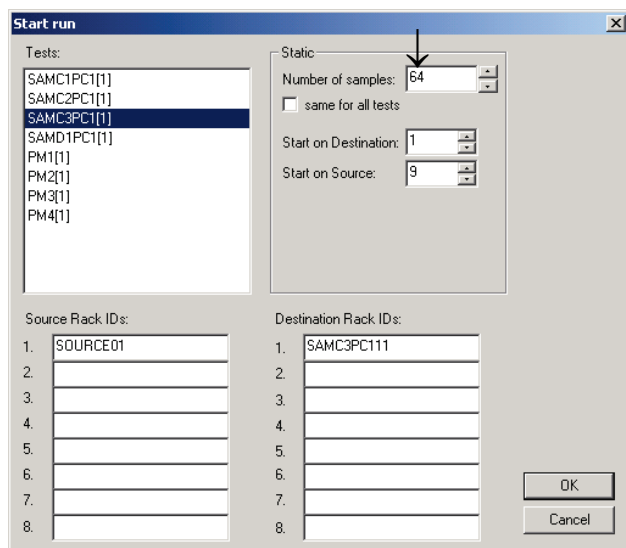
2. A caixa de diálogo **Scripts** será exibida, listando os scripts que foram adicionados à lista de execuções do RCS por meio do software Rapid Capture System ScriptSelect.
3. Selecione "3C1D". Esse script é usado para teste de uma única sonda para três racks de conversão e uma amostra *digene*.
4. Selecione "OK".



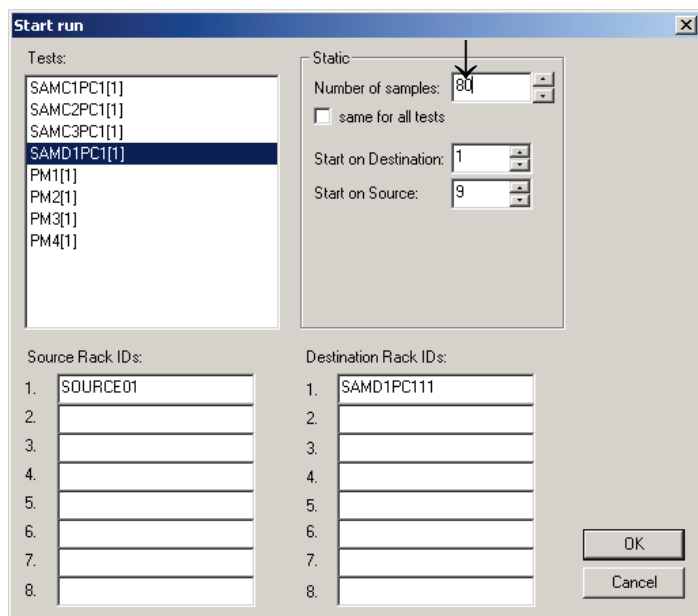
5. A janela **Start run** será exibida (consulte a seguir).



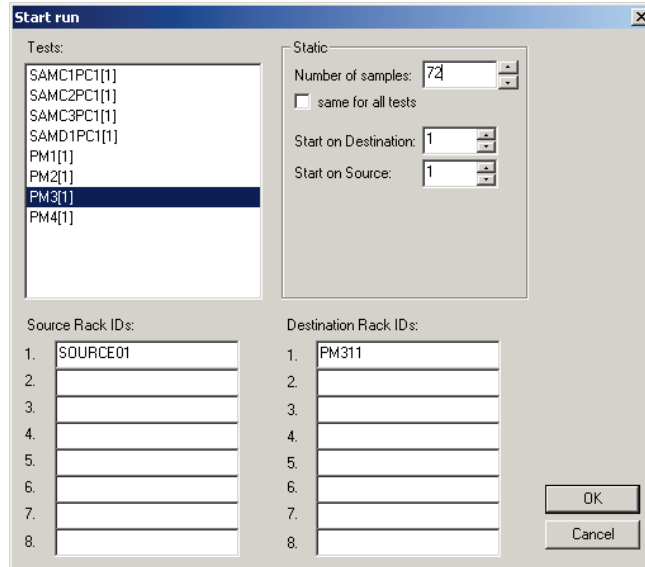
6. Na caixa de texto **Number of Samples** da janela “**Start Run**”, os números de amostras padrão são para placas completas de 88 amostras. Se uma placa parcial estiver sendo executada, esse número poderá ser alterado de 88 para refletir, adequadamente, o número de amostras sendo executadas nessa placa. Para alterar o número de amostras do padrão de 88 para uma placa específica, selecione a placa desejada na área “**Tests**”. Na área “**Test**”, o prefixo SAM indica o número de amostras a serem transferidas do rack para a placa de hibridização. Para esse exemplo, a placa SAMC3PC1(1) é uma placa parcial de amostras convertidas (amostras PreservCyt) e a SAMD1PC1(1) é uma placa parcial de amostras *digene*.
7. Para esse exemplo, **SAM3CPC1(1)** é a terceira placa da execução de quatro placas e contém 64 amostras de convertidas. O “**C**” na **SAMC3PC1(1)** denota um rack de amostra convertida. Na área “**Tests**”, selecione **SAMC3PC1(1)**. Na caixa de texto “**Number of Samples**” (Número de amostras), insira o número de amostras, sem incluir calibradores ou controles, a serem executados na placa parcial. Digite **64** em “**Number of Samples**”.



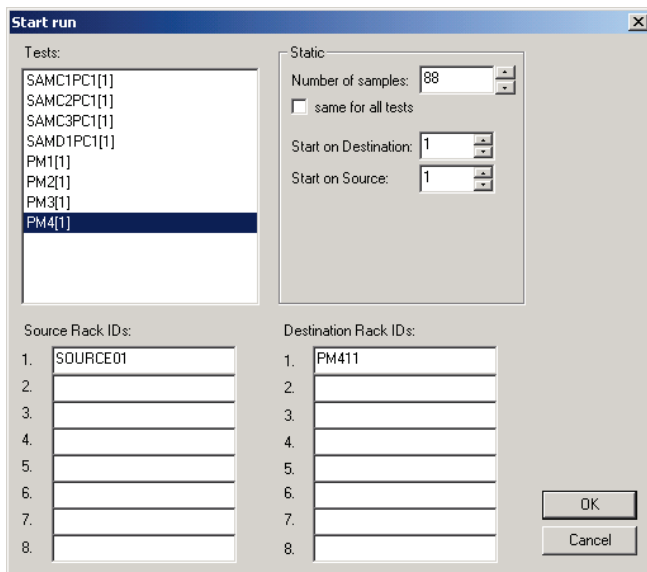
8. Para esse exemplo, **SAMD1PC1(1)** é a última placa da execução de quatro placas e contém 80 amostras *digene*. O “D” na **SAMD1PC1(1)** denota um *digene Specimen Rack*. Na área “**Tests**”, selecione **SAMD1PC1(1)**. Digite **80** em “**Number of Samples**”.



9. É fundamental que a quantidade correta de amostras seja inserida para a placa adequada. A inserção de um número menor do que o valor correto resultará em as amostras não serem transferidas do tubo de coleta de amostras para a placa de hibridização. A inserção de um número de amostras maior que o valor correto resultará em um tempo maior que o necessário para transferir o rack. Os resultados do ensaio e o desempenho do instrumento também podem ser afetados, se um reagente for adicionado a um poço que não contém uma amostra. Pode ocorrer falha de instrumento, devido à formação de precipitado, que pode entupir as cânulas da cabeça de lavagem.
10. Na área “**Tests**”, as placas PM1(1)-PM4(1) determinam o número de poços que receberão reagentes de ensaio para cada placa. As placas PM1(1)-PM4(1) incluem o número total de amostras a serem testadas, mais calibradores e controles. Na área **Static**, o número de amostras mais 8 (para calibradores e controles) é inserido na caixa de texto **Number of samples**. O padrão é uma placa completa de 96 poços. Para esse exemplo, o número correto de amostras para placas parciais PM3(1) e PM4(1) (o que corresponde a SAMC3PC1(1) e SAMD1PC(1), respectivamente), deve ser inserido.
11. Selecione **PM3(1)** e, em seguida, digite **72** em “**Number of Samples**” (Número de amostras) (64 amostras + 8 calibradores e controles). É fundamental que a quantidade correta de amostras seja inserida ara placa adequada. A inserção de um número de amostras menor que o valor correto resultará em poços de amostras que não têm reagentes adicionados e não são transferidos para a placa de captura. A inserção de um número de amostras maior que o valor correto pode fazer com que a sonda seja adicionada a poços que não contêm amostras. A sonda não será diluída pela amostra. Isso pode levar à formação de precipitado, que pode entupir as cânulas da cabeça de lavagem.



12. Selecione **PM4(1)**. Digite **"88"** em **"Number of Samples"** (Número de amostras). (80 amostras + 8 calibradores e controles). É fundamental que a quantidade correta de amostras seja inserida na placa adequada. A inserção de um número de amostras menor que o valor correto resultará em poços de amostras que não têm reagentes adicionados e não são transferidos para a placa de captura. A inserção de um número de amostras maior que o valor correto pode fazer com que a sonda seja adicionada a poços que não contêm amostras. A sonda não será diluída pela amostra. Isso pode levar à formação de precipitado, que pode entupir as cânulas da cabeça de lavagem.

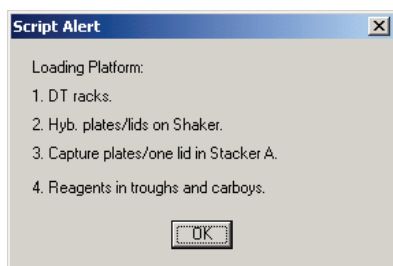


**CUIDADO: NUNCA** marque a caixa **"same for all tests"**, enquanto estiver executando amostras de pacientes. Marcar essa caixa levará a falha na adição da quantidade adequada de reagente a algumas amostras de pacientes.

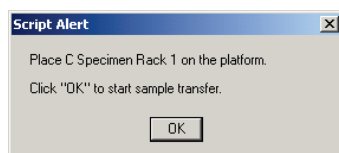
13. Selecione **"OK"** para iniciar o script.



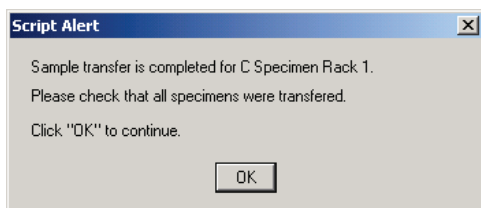
14. Todos os componentes do sistema serão inicializados e uma janela "Script Alert" será exibida, lembrando o usuário da adequada do deck.



15. Quando a configuração do deck tiver sido concluída, selecione "OK". As linhas do sistema serão escorvadas e lavadas.
16. Uma janela Script Alert será exibida, instruindo o usuário a colocar o Specimen Rack 1 C na plataforma.



17. Coloque o Conversion (C) Rack 1 no deck, de forma que o canto dentado maior do rack esteja na frente e à direita e a base esteja posicionada dentro das guias do rack sobre o deck.
18. Selecione "OK" para iniciar a transferência de amostras.
19. Depois de as amostras do rack 1 terem sido transferidas, a tela exibirá um alerta de script, direcionando o usuário a verificar se todas as amostras foram transferidas.



**Remova o Conversion Rack do deck. Inspeção visualmente a placa de hibridização para qualquer poço vazio que deveria ter recebido a amostra** Qualquer amostra com falha na transferência deve ser manualmente transferida usando um pipetador de um único canal (20-200 µl) e pontas de pipeta extra longas. O volume de transferência é de 75 µl. A posição do poço na placa corresponde diretamente à posição do tubo de amostra no rack. A placa de hibridização pode ser removida do deck para facilitar uma transferência manual.

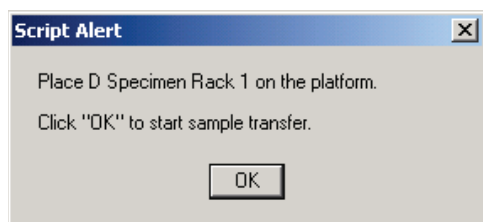


**CUIDADO:** Antes de continuar a execução, é fundamental que a placa seja devidamente posicionada no deck do RCS, quando devolvida à posição de pipetagem.

20. Selecione "OK".
21. Siga os prompts e repita as etapas de 15 a 19 para os racks de conversão remanescentes.

**Nota:** O quarto rack é um *digene* Specimen Rack. As amostras carregadas no rack contêm *digene* HC2 DNA Collection Devices. O local de coleta X, Y e Z dos adaptadores de ponta no RCS é diferente para o *digene* Specimen Rack e para o Conversion Rack. As tampas tipo conta-gotas devem ser colocadas na orientação adequada em todas as amostras *digene*, conforme exibido na Figura 2: *Orientação das tampas tipo conta-gotas*

22. Certifique-se de que as amostras *digene* tenham tampas tipo conta-gotas nos tubos e também de que o eixo da escova não obstruirá os adaptadores de pontas durante a transferência das amostras.
23. Uma janela Script Alert será exibida, instruindo o usuário a colocar o rack "D" no deck do RCS.



24. Selecione **OK**, depois de garantir que todos os *digene* HC2 DNA Collection Devices tenham tampas tipo conta-gotas.
25. Depois de Specimen Rack D 1 terem sido transferidas, a tela exibirá uma janela de alerta de script, direcionando o usuário a verificar se todas as amostras foram transferidas.



**Remova o *digene* Specimen Rack do deck. Inspeção visualmente a placa de hibridização para amostras não transferidas.** Qualquer amostra com falha na transferência deve ser manualmente transferida usando um pipetador de um único canal (20-200 µl) e pontas de pipeta extra longas. O volume de transferência é de 75 µl. A posição do poço na placa corresponde diretamente à posição do tubo de amostra no rack. A placa de hibridização pode ser removida do deck para facilitar uma transferência manual.

**AVISO: Antes de continuar a execução, é fundamental que a placa seja devidamente posicionada no deck do RCS, quando devolvida à posição de pipetagem.**

26. Selecione **"OK"**.
27. Depois que o último rack de amostras tiver sido transferido e verificado, um alerta de script aparecerá, lembrando o usuário de encher novamente os racks de pontas descartáveis (disposable tip, DT).

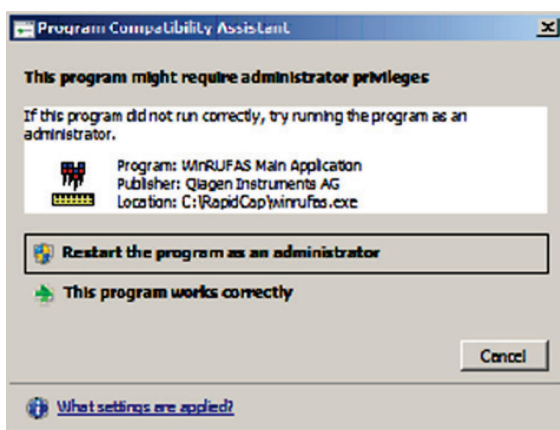


28. Nesse momento, encha novamente todos os racks de pontas descartáveis vazios e parcialmente vazios com bandejas de pontas completas. Esvazie o recipiente de resíduos de pontas descartáveis. É importante seguir as instruções nas caixas de alertas de script, antes de selecionar **"OK"**. O software Rapid Capture System irá controlar o tempo das etapas do ensaio, depois que a etapa de adição de misturas de sondas tiver sido iniciada. Quaisquer interrupções do usuário depois desse ponto vai interferir com os tempos de incubação do ensaio.
29. Clique em **"OK"** e o RCS irá concluir todas as etapas subsequentes do ensaio por meio da incubação do reagente 2 de detecção, fornecendo 3,5 horas de tempo de funcionamento sem a necessidade da interferência do usuário. Defina um

temporizador para 3 horas e 20 minutos, para garantir a devolução para o instrumento em tempo para ler a primeira placa.

**Notas:**

- O software Rapid Capture System monitora a temperatura das câmaras da incubadora. A adição de sonda não será iniciada, antes de a temperatura definida de 65°C tenha sido atingida. Nesse momento, o script continuará automaticamente, sem que seja necessária a intervenção do usuário.
- Se ocorrer um erro do instrumento, o Rapid Capture System soará um alarme, pausará e esperará intervenção do usuário. **Portanto, recomendamos que o usuário permaneça há uma distância em que possa ouvir o instrumento durante a execução.** Se ocorrer um erro, consulte imediatamente o representante local QIAGEN para obter instruções.
- Ao sair do software RCS depois da execução de um script, o Assistente de compatibilidade do Windows pode ser exibido. O RCS foi validado para uso com o Windows 7. Esta caixa de diálogo pode ser fechada sem problemas.



## VI. LEITURA DAS MICROPLACAS E GERAÇÃO DE RESULTADOS

**Notas:**

- O luminômetro deve ser ligado pelo menos uma hora antes da leitura da primeira placa. Recomendamos que o luminômetro fique ligado o tempo todo. O usuário deve retirar as microplacas do deck do Rapid Capture System no fim do período de incubação do reagente 2 de detecção para cada placa. Cada placa será colocada, em seguida, no luminômetro aprovado para geração de resultados.
  - Verifique se os protocolos específicos do RCS foram usados para criar o layout da placa.
1. Quando a placa 1 tiver concluído sua incubação do reagente 2 de detecção e estiver pronta para detecção de sinal usando o luminômetro, o Rapid Capture System soará um alarme e a janela **"Script Alert"** (Alerta de script) com a mensagem **"Assay is completed. Read plate in luminometer"** (Ensaio concluído, leia a placa no luminômetro) será exibida.



2. Retire a placa da posição de pipetagem no deck do RCS.
3. Selecione "OK". O RCS continuará processando as placas remanescentes.  
**Nota:** O protocolo do ensaio HPV do RCS no sistema de software *digene* HC2 foi programado para aplicar um ajuste de calibração (Calibration Adjustment Factor, CAF) de 0,8 ao valor médio de RLU das réplicas válidas do calibrador de positivos. Esse CAF é necessário para que as características de desempenho do ensaio executado no RCS permaneçam equivalentes ao procedimento de teste manual. Essa alteração se aplica somente a ensaios realizados usando o Rapid Capture System. Portanto, é fundamental selecionar o protocolo de ensaio correto para uso com cada método de teste específico, para gerar resultados de testes precisos.
4. Coloque a placa no luminômetro e leia. Consulte o manual do usuário do Hybrid Capture 2 System para obter detalhes com relação à medição de uma placa e à geração de relatórios de resultados.
5. Repita as etapas 1 - 4 acima para todas as placas remanescentes.
6. Consulte o IFU do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 para obter informações de consulte de qualidade, verificação do ensaio e instruções para interpretação dos resultados.  
**Nota:** A impressão de relatórios de resultados do luminômetro durante a geração de relatórios de resultados adicionais pode, em algumas situações, levar a uma desaceleração do RCS que pode afetar o tempo do ensaio. Recomendamos que os resultados de uma placa sejam impressos antes que os resultados das placas subsequentes sejam lidos, para evitar essa situação. Como alternativa, todas as placas podem ser lidas, mas os resultados não devem ser impressos, até que a execução do RCS tenha sido concluída.

## VII. Limpeza diária/do sistema

1. Descarte as placas de hibridização e a tampa da placa no empilhador B.
2. Limpe as canaletas e as tampas dos reagentes como se segue:
  - 2a. Canaletas: Descarte os reagentes residuais em conformidade com as leis locais, estaduais e federais. Lave e enxágue com água destilada ou deionizada e encha completamente com solução de hipoclorito de sódio, 0,5% v/v. Deixe as canaletas embebidas na solução de hipoclorito de sódio durante a noite. No dia seguinte, enxágue completamente as canaletas com água destilada ou deionizada por pelo menos 60 segundos. Coloque as canaletas invertidas em uma toalha de papel para secar. Substitua as canaletas de reagentes todo mês.
  - 2b. Tampas das canaletas: Lave e enxágue com água destilada ou deionizada e deixe mergulhadas, durante a noite, em solução de hipoclorito de sódio, 0,5% v/v. No dia seguinte, enxágue completamente com água destilada ou deionizada por pelo menos 60 segundos. Coloque em uma toalha de papel para secar. As tampas das canaletas de reagentes não são descartáveis e não precisam ser substituídas, a menos que estejam danificadas ou tenham sido perdidas.  
  
**Nota:** Se uma segunda execução do Rapid Capture System se seguir, imediatamente a primeira execução, recomendamos usar um segundo conjunto de canaletas e tampas de canaletas.
3. Descarte as placas de captura depois da leitura e da verificação de ensaio.
4. Se o instrumento não for ser utilizado no próximo dia útil, racks de pontas descartáveis contendo as pontas não utilizadas deverão ser tampados com uma tampa de placa, para evitar a entrada de poeira contaminando as pontas.
5. Esvazie o recipiente de resíduos de pontas descartáveis em um recipiente adequado.

- 
6. Esvazie o contêiner de resíduos. Os resíduos do Rapid Capture System têm um pH relativamente neutro. Descarte de acordo com os requisitos locais, estaduais e federais.
  7. Certifique-se de que as conexões de liberação rápida fiquem travadas no local, ao reencaixar as conexões no recipiente de resíduos. Verifique também se o frasco está localizado corretamente sem dobras nas linhas.
  8. Limpe todas as superfícies com um tecido macio umedecido em álcool ou toalha de papel com pouco fiapo: Essas superfícies incluem:
    - 8a. Rodinhas e posições do agitador. As rodinhas não deverão ficar travadas em uma posição.
    - 8b. Proteção contra gotejamento da estação de ejeção de pontas (a proteção deve ser removida e lavada com água deionizada ou destilada)
    - 8c. Deslizamento para ejeção de pontas (remova todas as pontas e limpe entre os trilhos com álcool para remover fluido residual)
    - 8d. Estação e tampa de enxágue de pontas. Remova a tampa e enxágue com água destilada ou deionizada.
    - 8e. Rack de canaletas.
    - 8f. No interior do empilhador A e B.
    - 8g. Posições de pipetagem 1 e 2.
    - 8h. Todas as outras superfícies do deck.
  9. Limpe cada adaptador de pipeta com um pano embebido em álcool.
  10. Remova o recipiente do lavador de placas e limpe a plataforma do lavador e a parte superior e inferior do recipiente do lavador com tecido macio embebido em álcool ou toalha de papel com pouco fiapo.

**Notas:**

- Para evitar a contaminação das áreas de trabalho com a fosfatase alcalina presente na solução de resíduos, sempre troque as luvas, depois de qualquer possível contato com a solução de resíduos, incluindo o contato com as conexões de liberação rápida.
- Consulte as seções *Manutenção de rotina* e *Desligamento do sistema* deste manual do usuário.

## VIII. LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

1. Falha ao verificar visualmente a placa de hibridização para garantir a transferência correta de amostras e a falha em corrigir qualquer transferência incorreta de amostras pode resultar em resultados falsos negativos.
2. Para obter os volumes de reagentes necessários para testes do RCS, apenas reagentes do mesmo lote de kits podem ser combinados.

3. Consulte o IFU dos testes de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 para obter informações sobre limitações adicionais específicas do método de teste.
4. Siga os avisos e precauções informados no IFU do teste de DNA de HPV de alto risco do *digene* HC2.

## IX. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Consulte o IFU do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 para obter características de desempenho específicas do teste de HPV usando a tecnologia Hybrid Capture 2.

## X. CONSIDERAÇÕES ADICIONAIS DE DESEMPENHO AO USAR O RAPID CAPTURE SYSTEM

Ao realizar testes de rendimento de espécies de alto desempenho usando o Rapid Capture® System, considere as seguintes características de desempenho.

### A. Transporte

O Rapid Capture System foi criado para minimizar a contaminação de espécies ou o transporte de fosfatase alcalina com o uso de pontas de pipetas descartáveis para aspiração de reagente e de amostra. Para confirmar essa característica do design, a QIAGEN realizou vários estudos para avaliar se o uso do Rapid Capture System aumentou o potencial para transporte ou contaminação cruzada de amostras, comparado ao método manual. Vários Rapid Capture System foram usados para avaliar o potencial de transporte de sistema para sistema.

Em um estudo, 2ng e 20ng de plasmídeo de DNA de HPV foi adicionado ao material do calibrador de negativos, para preparar amostras de STM simuladas altamente positivas. A concentração de 20 ng/ml produz valores de RLU aproximadamente três a cinco vezes mais altos que os esperados para amostras clínica positivas mais altas em testes clínicos de rotina. Essas amostras simuladas altamente positivas foram colocadas na microplaca em um padrão xadrez, em alternância com poços que contêm apenas calibradores negativos (poços de teste). Esse design considera possíveis efeitos aditivos de amostras altamente positivas sequenciais. As microplacas foram, em seguida, testadas usando o método manual e o Rapid Capture System. Depois do processamento, os números de poços de teste falsos positivos foram comparados. O Rapid Capture System não produziu mais poços de teste falsos positivos que o método manual, com essas amostras de STM simuladas, mesmo quando uma sequência extremamente alta de amostras positivas foi encontrada na placa.

Em uma segunda avaliação de transporte, as amostras positivas para HPV e as amostras PreservCyt foram combinadas para criar um painel de amostras com níveis diferentes de quimioluminescência para produzir valores de RLU/CO representativos da faixa esperada durante o uso clínico de rotina do Rapid Capture System. As amostras positivas variaram de aproximadamente

---

200 a 1800 RLU/CO. Para avaliar o potencial de transporte, incluindo os possíveis efeitos aditivos de positivos altos, esses membros do painel de positivos foram colocados em microplacas em um padrão xadrez, ao lado dos poços do calibrador de positivos. Essas placas foram, então, avaliadas usando o Rapid Capture System.

Os resultados dessa avaliação de transporte, usando amostras tiradas de vários pacientes diferentes\*, sugere uma possível taxa de falsos positivos de 0,3%, devido aos efeitos do transporte ao utilizar o Rapid Capture System para o teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2.

\* A experiência da QIAGEN em realizar testes com amostras PreservCyt retiradas de vários pacientes diferentes, sugere que a retirada de amostras PreservCyt de pacientes cria amostras que não exibem características semelhantes a amostras de um único paciente. Embora os efeitos dessas amostras de pacientes diferentes no possível transporte do Rapid Capture System sejam desconhecidos, testes pré-clínicos adicionais do Rapid Capture System indicaram que não houve aumento no potencial de resultados falso-positivos devido ao transporte. Essas avaliações foram realizadas usando amostras de plasmídeos artificiais, com concentrações de DNA aproximadamente 5 vezes mais altas que as observadas no cenário clínico.

Uma terceira avaliação de transporte criou amostras de teste com a adição de corante fluorescente em concentrações representativas da faixa de RLU dinâmica do ensaio, às matrizes de fundo que aproximaram a viscosidade de amostras clínicas e dos reagentes do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2. Essas amostras de teste foram, em seguida processadas usando três instrumentos separados do RCS e foi avaliado o potencial de cada uma das etapas procedimentais principais a seguir da aplicação do RCS: 1) transferência de amostra, 2) transferência de placa para placa, 3) adição de sonda, 4) agitação de microplacas e 5) lavagem de microplacas. A fluorescência resultante foi medida a um comprimento de onda de excitação de 485 nm e um comprimento de onda de emissão de 535 nm e foi sensível suficiente para detectar um evento de transporte da ordem de 1:20.000, o que corresponderia a um resultado falso positivo com o teste de DNA do HPV de alto risco *digene* HC2 (i.e. 1 pg em 20ng). Os resultados dessa avaliação não demonstraram nenhum evento de transporte em nenhuma das etapas procedimentais principais da aplicação do RCS, o que levaria a um resultado de teste de DNA do HPV de alto risco *digene* HC2.

## B. Estabilidade do reagente no sistema

A QIAGEN avaliou as características de desempenho do ensaio Rapid Capture Assay ao usar reagentes que permaneceram na plataforma do sistema por períodos prolongados. Os reagentes com maior probabilidade de estarem sujeitos a períodos prolongados no sistema incluíram *Mistura de sondas*, *Reagente 1 de detecção*, *Reagente 2 de detecção* e as *placas de captura*. O desempenho do ensaio foi avaliado usando reagentes preparados frescos e reagentes que foram deixados envelhecer na plataforma do Rapid Capture System à temperatura ambiente por um período de 16 h horas (para simular dois turnos de trabalho no laboratório). Os testes de amostras clínicas simuladas foram realizados usando dois Rapid Capture System em cada um dos dois dias de teste com matriz de reagentes como se segue:

**Tabela 6**

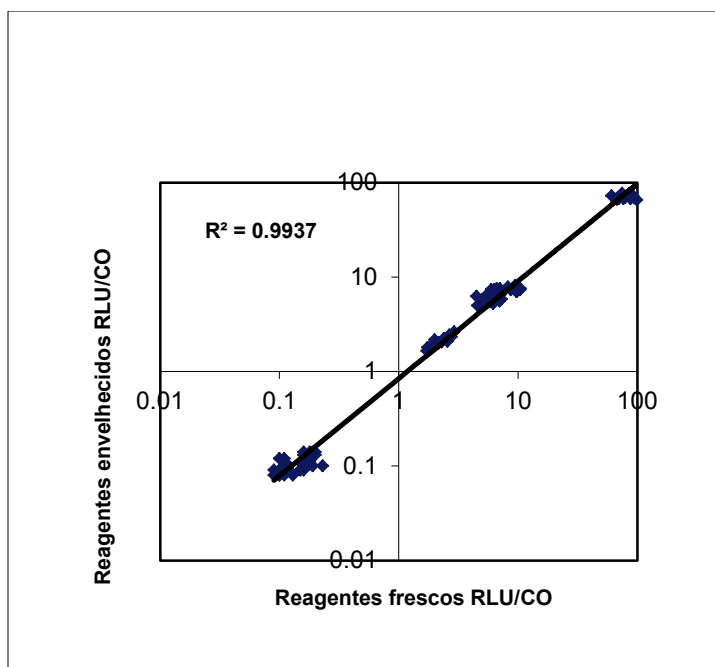
**Design do estudo para avaliação da estabilidade do reagente no sistema**

Rapid Capture System	Dia 1	Dia 2
1	Reagentes envelhecidos	Reagentes frescos
2	Reagentes frescos	Reagentes envelhecidos

Um gráfico com todos os pontos de dados do RLU/CO é mostrado na Figura 3. O gráfico e a análise de regressão dos reagentes envelhecidos versus frescos indicam concordância entre os reagentes envelhecidos e frescos.

**Figura 3**

Gráfico de dispersão comparando os valores de calibrador e de controle do ensaio usando reagentes envelhecidos e frescos



Exame adicional dos resultados da concordância mostra que nenhum resultado qualitativo foi alterado usando reagentes envelhecidos.



Tabela 7

Concordância dos resultados do calibrador e do controle  
Reagentes frescos vs. envelhecidos

Concordância geral (95% C.I.)	Concordância nos positivos (95% C.I.)	Concordância nos negativos (95% C.I.)	R2	Inclinação	Intercepto	Kappa
100% 96/96 (97,97-100)	100% 64/64 (97,97-100)	100% 32/32 (97,97-100)	0,9937	0,97	0,47	1,0

A análise de dados mostra os resultados como sendo estatisticamente idênticos para reagentes frescos e envelhecidos, indicando que os reagentes são suficientemente estáveis quando colocados no instrumento por um período de até 16 horas.

### C. Reprodutibilidade com amostras do STM

Para avaliar a reprodutibilidade dentro da execução, no dia-a-dia e entre laboratórios dos resultados do teste de DNA do HPV de alto risco *digene* HC2 usando amostras de STM testadas com o Rapid Capture System, um painel de 16 membros de amostras de vários pacientes diferentes foi testado usando um único lote de reagentes para cada execução do teste, duas vezes por dia, em três dias diferentes. Cada membro do painel foi testado quatro vezes. O painel foi composto como ilustrado na tabela a seguir.

**Tabela 8**  
**Composição do painel de reprodutibilidade de amostras de STM**

ID do painel	Composição*	Resultado esperado do teste de DNA de HPV de alto risco <i>digene</i> HC2
1N	< 0,4	Negativo
2N	0,4 – 0,8	Negativo
3E	0,8 – 1,2	Equívoco
4E	0,8 – 1,2	Equívoco
5E	0,8 – 1,2	Equívoco
6P	1,2 – 2,0	Positivo baixo
7P	1,2 – 2,0	Positivo baixo
8P	1,2 – 2,0	Positivo baixo
9P	2,0 – 5,0	Positivo baixo
10P	5 - 10	Positivo médio
11N	< 0,4	Negativo
12N	< 0,4	Negativo
13N	< 0,4	Negativo
14XR	Material positivo de DNA de HPV LR no conjunto de amostras negativas clínicas de STM	Equívoco
15XR	Plasmídeo de DNA de HPV de LR em conjunto negativo clínico de STM	Equívoco ou positivo baixo
16XR	Controle de DNA de vetor de plasmídeo no conjunto negativo clínico de STM	Equívoco ou positivo baixo

\*Os valores de RLU/CO representam os valores-alvo esperados durante a preparação dos membros do painel e podem não refletir os valores exatos observados durante o teste.

Os membros do painel 14XR e 15XR foram incluídos para avaliar o potencial para hibridização cruzada da sonda de HPV de alto risco com amostras que contêm apenas tipos de DNA de HPV de baixo risco 6, 11, 42, 43 e 44. O membro do painel 16XR era composto de DNA pGEM a uma concentração de 1,49ng/ml e serviu como um controle de vetor para o membro do painel 15XR. Os resultados desse teste não indicou nenhum resultado falso-positivo do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2, devido à presença de tipos de DNA de HPV de baixo risco em amostras clínicas. Esses resultados são consistentes com o ensaio realizado manualmente.

A reprodutibilidade dos resultados de HPV HR ao testar amostras de STM usando o Rapid Capture System está descrita na **Tabela 9**. A variabilidade foi calculada de acordo com o método descrito pelo NCCLS E5-A<sub>f</sub>. Esse método requer o cálculo de componentes de variância para cada uma das fontes de variabilidade: Laboratório, dia, execução e erro (definido como entre ensaios e variação entre ensaios).

**Tabela 9**  
**Rapid Capture System: Estudo de reprodutibilidade da amostra de STM**  
**Desvio padrão (Standard Deviations, SD) e Coeficiente de variação (Coefficients of Variation, CV)**  
**Por laboratório, por dia e por execução\*\***

Membro do painel	N	RLU/CO médio	Desvio padrão					Porcentagem total de CV
			Dentro da execução	Entre execuções	Entre dias	Entre laboratórios	Total	
1N	72	0,13	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	15,10
2N	72	0,36	0,03	0,01	0,03	0	0,04	11,69
3P	72	0,96	0,06	0,06	0,04	0	0,09	9,55
4P	72	1,03	0,06	0,18	0,06	0	0,19	18,81
5P	72	1,41	0,11	0,14	0,15	0,06	0,24	17,00
6P	72	1,73	0,10	0,27	0	0,11	0,31	18,10
7P	72	1,74	0,12	0,21	0	0	0,24	13,78
8P*	70	1,95	N/A	N/A	N/A	N/A	0,47	23,80
9P	72	5,21	0,34	0,44	0,21	0	0,59	11,36
10P	72	7,67	0,46	0,63	0,71	0	1,05	13,70
11N	72	0,13	0,01	0,01	0,01	0	0,02	16,89
12N	72	0,17	0,03	0,06	0,03	0	0,07	39,14
13N	72	0,15	0,02	0,02	0	0,01	0,03	17,01

\*Duas réplicas inválidas para o membro do painel 8P impediram a análise do componente de variância, devido a grupos de tamanhos desiguais, quando comparados.

\*\* Os componentes de variância negativa são definidos como zero.

N/A: não possível fazer a análise de variância, devido a menos réplicas que outros membros do painel

### C. Precisão com amostras de solução PreservCyt

Um estudo interno de precisão da aplicação para HPV do Rapid Capture System foi realizado usando amostras clínicas PreservCyt obtidas predominantemente de mulheres com citologia de ASC-US ou maior (prevalência de HPV de 57%). As amostras foram divididas em duas alíquotas e cada alíquota foi, em seguida, processada individualmente usando o kit de conversão de amostra *digene* HC2 e, em seguida, testadas duas vezes com o teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2. Como com outros IVDs qualitativos, a variabilidade dos resultados do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 obtidos com amostras clínicas estão associados principalmente a um ou a uma combinação do seguinte: 1) Coleta de amostras; 2) processamento de amostras antes do teste e 3) o procedimento de teste. A variabilidade devido à coleta de amostras foi controlada porque réplicas comparativas foram obtidas a partir da mesma amostra clínica. A repetibilidade dos resultados

obtidos a partir de duas alíquotas de amostras processadas individualmente a partir da mesma amostra clínica (denominada "Entre alíquotas processadas") reflete a variação devido à combinação de processamento de conversão de amostra PreservCyt e procedimento de teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2.

Em contraste, a repetibilidade de resultados de réplicas obtidas a partir da mesma alíquota de amostras processadas (denominada "Dentro da alíquota processada") reflete a variação apenas do procedimento de teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2.

**Tabela 10**

**Concordância do resultado qualitativo dentro e entre as alíquotas PreservCyt processadas**

	<b>Análise</b>	<b>Positivo Concordância (%) (n/N) IC de 95%</b>	<b>Negativo Concordância (%) (n/N) IC de 95%</b>	<b>Globalmente Concordância (%) (n/N) IC de 95%</b>
Dentro da alíquota processada	Todos os dados	99,62 (261/262) 97,9, 100,0	94,7 (160/169) 90,1, 97,5	97,7 (421/431) 95,8, 98,9
	Regiões positivas/negativas fortes	100,0 (249/249) 98,5, 100,0	98,2 (160/163) 94,7, 99,6	99,3 (409/412) 97,9, 99,9
Entre alíquotas processadas	Todos os dados	99,6 (264/265) 97,9, 100,0	98,2 (163/166) 94,8, 99,6	99,1 (427/431) 97,6, 99,8
	Regiões positivas/negativas fortes	100,0 (249/249) 98,5, 100,0	99,4 (161/162) 96,6, 100,0	99,8 (410/411) 98,7, 100,0

#### D. Resultados quantitativos de reprodutibilidade do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 para amostras simuladas de solução PreservCyt ao usar o Rapid Capture System

Um estudo foi realizado para avaliar a reprodutibilidade quantitativa dos resultados obtidos com o Rapid Capture System, ao testar amostras simuladas de solução PreservCyt. Três centros de teste, inclusive a QIAGEN, participaram do estudo.

Cada laboratório de testes realizou o teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 duas vezes por dia em cinco dias diferentes, usando os procedimentos de teste RCS e manual, com um painel de reprodutibilidade fornecido pela QIAGEN. Cada membro do painel PreservCyt simulado foi testado quatro vezes. O painel foi composto de seis membros que consistiam

---

em dois negativos, dois positivos baixos, um positivo. Cada membro do painel foi composto de células cultivadas em solução PreservCyt que deveriam produzir um valor aproximado de RLU/CO, conforme descrito na tabela abaixo.

Tabela 11

Composição do painel de seis membros para as amostras PreservCyt simuladas da aplicação de HPV de alto risco do Rapid Capture System

Número do ID do painel	Tipo de célula	RLU/CO aproximado	Resultado esperado
1	JurKat	< 1,00	Negativo
2	JurKat	< 1,00	Negativo
3	SiHa + JurKat	5,0-8,0	Positivo baixo
4	SiHa + JurKat	5,0-8,0	Positivo baixo
5	SiHa	30,0-50,0	Positivo médio
6	SiHa	200,0	Positivo alto

Os membros do painel positivo de DNA de HPV foram preparados adicionando quantidades variadas de células SiHa positivas de DNA de HPV (de uma linha de células de laboratório) para gerar membros do painel positivos baixos, positivos médios e positivos altos. O membro do painel negativo foi composto de células JurKat negativas para HPV (de uma linha de células de laboratório diferentes). A concentração celular final de todas as seis amostras (com ou sem células infectadas por HPV adicionadas) foi de aproximadamente  $5 \times 10^4$  células/ml.

A reprodutibilidade dos resultados de HPV HR ao testar amostras PreservCyt usando o Rapid Capture System está descrita na Tabela 12. A variabilidade foi calculada de acordo com o método descrito pelo NCCLS E5-A *f*. Esse método requer o cálculo dos componentes de variância para cada uma das fontes de variabilidade: laboratório, dia, execução e erro (definido como entre ensaios e variação entre ensaios). Os resultados dessas análises estão apresentados para cada amostra na tabela a seguir. Cada um dos seis membros do painel foi testado quatro vezes em cada uma das dez execuções (duas execuções por dia durante cinco dias de testes) em cada um dos três laboratórios de teste.

Tabela 12

Rapid Capture System: Desvios padrão (SD) e coeficientes de variação (CV) do estudo de reprodutibilidade de amostras PreservCyt por laboratório, por dia e por execução\*

(N=120)

Membro do painel	N	RLU/CO médio	Desvio padrão					Porcentagem total de CV
			Dentro da execução	Entre execuções	Entre dias	Entre laboratórios	Total	
1N	120	0,20	0,04	0,01	0,01	0,08	0,089	44,4
2N	120	0,20	0,06	0,01	0	0,08	0,10	52,2
3P	120	4,05	0,76	1,17	0	0,26	1,42	35,1
4P	120	4,23	0,74	0,86	0	0,31	1,18	27,8
5P	120	28,6	5,00	5,61	4,41	0	8,71	30,5
6P	120	214,6	33,95	27,25	18,09	25,53	53,61	25,0

*f* NCCLS. Avaliação do desempenho da precisão dos dispositivos de química clínica; Diretrizes aprovadas. NCCLS documento E5-A (1999).

\* Os componentes de variância negativa são definidos como zero.

Para complementar esse estudo de reprodutibilidade inicial com dados de amostras muito próximos aos dados de corte, um estudo de precisão adicional foi realizado em um centro externo, fora da QIAGEN usando o Rapid Capture System. Esse centro externo concluiu o teste de HPV HR com a aplicação do RCS usando um único lote de reagentes de teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2 para cada execução do teste, realizando o teste duas vezes por dia em três dias diferentes, com um painel de reprodutibilidade de cinco membros de amostras PreservCyt simuladas fornecidas pela QIAGEN. Cada membro do painel foi dividido em quatro alíquotas e todas as quatro alíquotas foram testadas na mesma microplaca. O painel de precisão PreservCyt simulado consistiu em um membro negativo, dois negativos/positivos baixos e dois membros positivos baixos. Cada membro do painel foi preparado batizando células Jurkat e SiHa em solução PreservCyt para produzir valores RLU/CO valores como se segue:

**Tabela 13**

**Rapid Capture System: Valores-alvo de RLU/CO de membros do painel do estudo de precisão de amostras PreservCyt**

Número do painel	Valor aproximado de RLU/CO	Resultado esperado
1	0,2	Negativo
2	0,8 – 1,2	Negativo/positivo baixo
3	0,8 – 1,2	Negativo/positivo baixo
4	1,2 – 2,0	Positivo baixo
5	1,2 – 2,0	Positivo baixo

**Tabela 14**

**Rapid Capture System: Desvios padrão (SD) e coeficientes de variação (CV) da precisão de amostras PreservCyt por dia e por execução\***

Membro do painel	N	Média de RLU/CO	Desvio padrão				CV%
			Dentro da execução	Entre execuções	Entre dias	Total	
1N	24	0,14	0,01	0,00	0,02	0,02	15,12
2E	24	1,39	0,14	0,15	0	0,21	14,84
3E	24	1,31	0,16	0	0,11	0,19	14,70
4P	24	1,74	0,13	0,21	0,18	0,31	17,73
5P	24	1,63	0,24	0,20	0,26	0,40	24,63

\* Os componentes de variância negativa são definidos como zero.

## E. Concordância dos resultados da aplicação de HPV do Rapid Capture System com o método manual em amostras clínicas

Um estudo multicêntrico (n = 2270 pacientes) foi realizado para avaliar os resultados clínicos obtidos com o Rapid Capture System, comparado com os resultados obtidos usando o método manual. O teste foi realizado em três centros, fora da

QIAGEN, com amostras de pacientes coletadas de cinco centros de coleta. O conjunto de dados consistiu em 1269 amostras cervicais coletadas em solução PreservCyt e 1001 amostras coletadas em meio de transporte de amostras.

Concordâncias estatísticas, entre amostras semelhantes testadas com o Rapid Capture System e com o teste manual, foram calculadas para essa população de pacientes.

**Tabela 15**

**Resumo da concordância: RCS vs. método de teste de HPV manual**

**Dados de amostras de pacientes STM**

**N=1001**

Classificação citológica	Porcentagem de prevalência do HPV	Porcentagem de concordância nos positivos (n/N) IC de 95%		Porcentagem de concordância nos negativos (n/N) IC de 95%	
		Globalmente	Região forte para positivos ( $\geq 2,5$ )	Globalmente	Região forte para negativos ( $< 0,8$ )
WNL <30 anos	21%	99,3 (139/140) 96,1, 100	99,1 (112/113) 95,2, 100	99,3 (538/542) 98,1, 99,8	100 (531/531) 99,3, 100
WNL <30 anos ou mais	15%	92,0 (23/25) 74,0, 99,0	93,8 (15/16) 69,8, 99,8	100 (143/143) 97,5, 100	100 (142/142) 97,4, 100
ASC-US	65%	98,1 (51/52) 89,7, 100	100 (47/47) 92,4, 100	96,4 (27/28) 81,7, 99,9	100 (26/26) 86,8, 100
LSIL+	96%	100 (65/65) 94,5, 100	100 (62/62) 94,2, 100	66,7 (2/3) 9,4, 99,2	66,7 (2/3) 9,4, 99,2
Outros	33%	100 (1/1) 2,5, 100	100 (1/1) 2,5, 100	100 (2/2) 15,8, 100	100 (2/2) 15,8, 100
Todos STM	28%	98,6 (279/283) 96,4, 99,6	99,2 (237/239) 97,0, 99,9	99,2 (712/718) 98,2, 99,7	99,9 (703/704) 99,2, 100



Tabela 16

Resumo da concordância: RCS vs. método de teste de HPV manual

Dados das amostras clínicas PreservCyt

N=1269

Classificação citológica	HPV Prevalência	Porcentagem de concordância nos positivos (n/N) IC de 95%		Porcentagem de concordância nos negativos (n/N) IC de 95%	
		Globalmente	Região forte para positivos ( $\geq 2,5$ )	Globalmente	Região forte para negativos ( $< 0,8$ )
WNL <30 anos	20%	96,2 (75/78) 89,2, 99,2	100 (64/64) 94,4, 100	98,4 (301/306) 96,2, 99,5	99,0 (293/296) 97,1, 99,8
WNL <30 anos ou mais	8%	88,7 (47/53) 77,0, 95,7	92,1 (35/38) 78,6, 98,3	99,1 (578/583) 98,0, 99,7	99,5 (571/574) 98,5, 99,9
ASC-US	36%	100 (48/48) 92,6, 100	100 (46/46) 92,3, 100	96,6 (84/87) 90,3, 99,3	96,5 (83/86) 90,1, 99,3
LSIL+	77%	100 (64/64) 94,4, 100	100 (62/62) 94,2, 100	89,5 (17/19) 66,9, 98,7	88,9 (16/18) 65,3, 98,6
Outra citologia	11%	100 (3/3) 29,2, 100	100 (3/3) 29,2, 100	100 (24/24) 85,6, 100	100 (24/24) 85,8, 100
Todas as amostras clínicas PreservCyt*	20%	96,4 (238/247) 93,2, 98,3	98,6 (211/214) 96,0, 99,7	98,5 (1007/1022) 97,6, 99,2	98,9 (990/1001) 98,0, 99,4

\* Dados da citologia de 4 pacientes indisponíveis

Um estudo clínico complementar foi realizado usando amostras PreservCyt residuais arquivadas coletadas de uma subpopulação de mulheres de 30 anos ou mais velhas com citologia normal (teste de DNA de HPV de alto risco *digene HC2* ).

A **tabela 17** indica 7 (sete) resultados discordantes entre os métodos manual e RCS na região forte para positivos. Os resultados manuais iniciais para essas sete amostras estavam fora do algoritmo de novo teste de amostras PreservCyt, mas, no entanto, como o design do estudo exigia teste triplicado e todas as espécies, resultados repetidos estavam disponíveis para a resolução da discrepância. Os dados de teste repetidos das sete amostras discordantes são mostrados na **Tabela 18** e sugere que todas as amostras discordantes são negativas para DNA de HPV. Com base nos resultados negativos obtidos para as duas réplicas, cada um dos resultados manuais inicialmente positivos era, provavelmente, falso.

Tabela 17

Rapid Capture System vs. método de teste de HPV na população (N=2.77) à qual é destinado o uso do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2

Prevalência do HPV	Concordância nos positivos (n/N) IC de 95%		Concordância nos negativos (n/N) IC de 95%	
	Globalmente	Região forte para positivos (>2,5)	Globalmente	Região forte para negativos (<0,8)
4,8%	92,0 (92/100) 84,84, 96,48	91,8 (78/85) 83,77, 96,62	99,3 (1964/1977) 98,88, 99,65	99,7 (1944/1949) 99,40, 99,92

Tabela 18

Amostras PreservCyt discordantes na população à qual é destinado o uso do teste de DNA de HPV de alto risco *digene* HC2  
(n=7)

Amostra	Centro	Manual (RLU/CO)			RCS (RLU/CO)		
		Inicial	Repetido 1	Repetido 2	Inicial	Repetido 1	Repetido 2
1	A	2,51	0,08	0,08	0,12	0,17	0,14
2	A	20,18	0,08	0,09	0,19	0,24	0,20
3	A	3,88	0,12	0,11	0,17	0,22	0,22
4	A	9,37	0,09	0,09	0,15	0,21	0,20
5	A	6,01	0,17	0,13	0,25	0,30	0,30
6	B	2,97	0,71	0,99	1,59	0,89	0,90
7	C	11,01	0,16	0,14	0,19	0,15	0,21

Os resultados deste estudo clínico indicam concordância, no geral, entre o Rapid Capture System e métodos manuais que usam amostras STM ou PreservCyt.

---

Encomendas: [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Suporte técnico: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)