

Dezembro 2017

# Ficha de protocolo do QIASymphony<sup>®</sup> SP

## Protocolo VirusBlood200\_V5\_DSP

Este documento é VirusBlood200\_V5\_DSP *QIASymphony SP Protocol Sheet*, R2, do QIASymphony DSP DNA Mini Kit, versão 1.

## Informações gerais

O kit QIAasymphony DSP DNA destina-se ao uso diagnóstico in vitro.

Este protocolo destina-se à purificação de DNA viral de sangue total humano fresco usando o QIAasymphony SP e o QIAasymphony DSP DNA Mini Kit. O DNA viral dos vírus liberados, bem como dos vírus associados às células, é copurificado com DNA genômico das células sanguíneas.

<b>Kit</b>	QIAasymphony DSP DNA Mini Kit (Ref. 937236)
<b>Material da amostra</b>	Sangue total humano (EDTA ou citrato ou anticoagulante)
<b>Nome do protocolo</b>	VirusBlood200_V5_DSP
<b>Conjunto padrão de controle de teste</b>	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
<b>Editável</b>	Volume de eluição: 60 µl, 85 µl, 110 µl, 165 µl
<b>Versão de software necessária</b>	Versão 4.0 ou superior

## Gaveta "Sample" (Amostra)

<b>Tipo de amostra</b>	Sangue total humano (EDTA ou citrato ou anticoagulante)
<b>Volume de amostra</b>	Depende do tipo de tubo de amostra usado; para mais informações, acesse <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Tubos de amostra primários</b>	Para mais informações, acesse <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Tubos de amostra secundários</b>	Para mais informações, acesse <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Introdutores</b>	Depende do tipo de tubo de amostra usado; para mais informações, acesse <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
<b>Outros</b>	Mistura de controle interno – tampão ATE requerido; o uso do controle interno é opcional

## Gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e materiais de consumo)

<b>Posição A1 e/ou A2</b>	Cartucho de reagentes
<b>Posição B1</b>	n/a
<b>Suporte de rack para ponteiras, 1-17</b>	Ponteiras com filtro descartáveis, 200 µl ou 1500 µl
<b>Suporte de caixa unitária, 1-4</b>	Caixas unitárias com cartuchos de preparo de amostra ou tampas de 8 hastes

n/a = não aplicável.

## Gaveta "Waste" (Resíduos)

Suporte de caixa unitária, 1-4	Caixas unitárias vazias
Suporte de saco de resíduos	Saco de resíduos
Suporte de recipiente de resíduos líquidos	Recipiente de resíduos líquidos vazio

## Gaveta "Eluate" (Eluído)

Rack de eluição (recomendamos o uso da fenda 1 na posição de resfriamento)	Para mais informações, acesse <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> .
--	--

## Materiais plásticos necessários

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

\* O uso de mais de um tubo de controle interno por lote e a execução de mais de uma verificação de inventário exige ponteiras com filtro descartáveis adicionais. Utilizar menos de 24 amostras por lote reduz o número de ponteiras com filtro descartáveis necessárias por execução de teste.

† Há 32 ponteiras com filtro por rack para ponteiras.

‡ O número necessário de ponteiras com filtro inclui as ponteiras com filtro para 1 verificação de inventário por cartucho de reagentes.

§ Há 28 cartuchos de preparo de amostra por caixa unitária.

¶ Há doze tampas de 8 hastes por caixa unitária.

**Nota:** Dependendo das configurações, a quantidade de ponteiras com filtro fornecida pode diferir da quantidade exibida na tela sensível ao toque. Recomendamos carregar o maior número possível de ponteiras.

## Volume de eluição selecionado

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

\* O volume de eluição é selecionado na tela sensível ao toque. Esse é o volume mínimo acessível de eluído no tubo de eluição final.

† O volume inicial da solução de eluição é necessário para garantir que o volume real de eluído seja igual ao volume selecionado previamente.

## Preparação do controle interno – mistura de tampão ATE

O uso do protocolo VirusBlood200\_V5\_DSP em combinação com sistemas de amplificação que usam um controle interno pode exigir a introdução desses controles no procedimento de purificação para monitorar a eficiência da preparação da amostra e do ensaio a jusante.

A quantidade de controle interno que é adicionada depende do sistema de análise e do volume de eluição escolhido dentro do protocolo VirusBlood200\_V5\_DSP. O cálculo e a validação devem ser realizados pelo usuário. Consulte as instruções do fabricante para o ensaio a jusante para determinar a concentração ideal do controle interno.

Controles internos devem ser adicionados com a mistura de controle interno – tampão ATE (ATE) em um volume total de 60 µl. Uma mistura de controles internos pode ser usada para analisar diferentes parâmetros de um único eluato. A compatibilidade de diferentes controles internos deve ser validada pelo usuário. É recomendável preparar misturas frescas para cada ensaio logo antes de sua utilização. Se nenhum controle interno for usado, o uso do tampão ATE ainda será necessário.

Volume de eluição selecionado (µl)	Volume de eluição inicial (µl)	Controle interno do volume (µl)*	Tampão ATE (ATE) do volume (µl)	Volume final por amostra (µl)
60	90	9	51	60
85	115	11,5	48,5	60
110	140	14	46	60
165	195	19,5	40,5	60

\* O cálculo da quantidade de controle interno baseia-se nos volumes iniciais de eluição. O volume vazio adicional depende do tipo de tubo de amostra usado; acesse [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) para mais informações.

**Nota:** Os valores exibidos na tabela são destinados à preparação da mistura do controle interno – tampão ATE para um ensaio a jusante que requer 0,1 µl de controle interno / µl de eluato.

Os tubos que contêm as misturas de controle interno – tampão ATE são colocados num porta-tubos. O porta-tubos contendo a(s) mistura(s) de controle interno – tampão ATE deve ser colocado na ranhura A da gaveta "Sample~~Amostra~~" (Amostra).

Dependendo do número de amostras a serem processadas, recomendamos o uso de tubos de 2 ml (Sarstedt®, ref. n° 72.693 e 72.694) ou 14 ml de poliestireno e 17 x 100 mm, tubos de fundo redondo (Becton Dickinson (BD™), ref. n° 352051) para diluir o controle interno, conforme descrito na tabela abaixo. É possível dividir o volume em 2 ou mais tubos.

### Calculando o volume da mistura de controle interno

Tipo de tubo <sup>‡</sup>	Nome na tela sensível ao toque do QIASymphony	Cálculo do volume da mistura de controle interno por tubo
2 ml com tampa; microtubo de 2 ml, PP, SKIRTED, (Sarstedt, ref. n° 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtubo de 2 ml com tampa; microtubo de 2 ml, PP, NON-SKIRTED, (Sarstedt, ref. n° 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tubos de 14 ml, 17 x 100 mm, poliestireno, fundo redondo (Becton Dickinson, ref. n° 352051).	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

\* Use esta equação para calcular o volume necessário de mistura de controle interno ( $n$  = número de amostras;  $60 \mu\text{l}$  = volume da mistura de controle interno – tampão ATE;  $360 \mu\text{l}$  = volume vazio necessário por tubo). Por exemplo, para 12 amostras ( $n = 12$ ):  
 $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$ . Não encha o tubo com mais de 1,92 ml (ou seja, um máximo de 26 amostras por tubo). Se mais de 26 amostras forem processadas, use tubos adicionais, garantindo que o volume vazio seja adicionado por tubo.

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

‡ Acesse [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) para ver os introdutórios necessários.

## Preparo de material de amostra

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre utilize um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (Safety data Sheets, SDS) disponíveis no fornecedor do produto.

### Sangue humano total

Para o isolamento do DNA viral, recomendamos o uso de amostras de sangue total tratadas com EDTA ou citrato. As amostras devem ser processadas 24 horas antes da coleta. Armazene ou transporte amostras a 2–25 °C. Para armazenamento mais longo, recomendamos congelar as alíquotas a –20 °C ou –80 °C.

---

Se usar amostras de sangue fresco em tubos primários, misture bem as amostras de sangue (por exemplo, invertendo os tubos várias vezes) antes de colocá-los no QIA Symphony SP. Para garantir uma transferência de amostra confiável, evite gerar espuma nos tubos de amostra. Tente evitar coágulos sanguíneos nas amostras e, se necessário, transfira a amostra sem coágulos para um novo tubo.

## Histórico de revisão

Histórico de revisão do documento	
R2 12/2017	Atualização para o software QIASymphony versão 5.0

Para informações atualizadas sobre licenças e avisos legais específicos de produtos, consulte o manual do kit da QIAGEN® pertinente ou o manual do usuário. Os manuais de instruções dos kits da QIAGEN e os manuais do usuário estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitados aos Serviços técnicos da QIAGEN ou ao distribuidor local.

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group), BD™, (Becton, Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). 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.  
12/2017 HB-0977-S07-002 © 2017 QIAGEN, todos os direitos reservados.

---

Pedido [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistência Técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)