

Dezembro 2017

Folha de protocolo QIASymphony[®] SP

Protocolo Cellfree200_V7_DSP

Este documento é a *Folha de protocolo do QIASymphony SP: Cellfree200_V7_DSP* para o QIASymphony DSP
Virus/Pathogen Mini Kit, versão 1, R2.

Informações gerais

O QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit destina-se a utilização em diagnóstico *in vitro*.

Kit	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Material de amostra*	Plasma, soro e LCR
Nome do protocolo	Cellfree200_V7_DSP
Conjunto de controlo do ensaio predefinido	ACS_Cellfree200_V7_DSP_default_IC
Editável	Volume de eluato: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Versão de software necessária	Versão 4.0 ou posterior

* Para mais informações ver "Preparação do material de amostra" e "Limitações", na página 5.

Bandeja "Sample" (Amostra)

Tipo de amostra	Plasma, soro e LCR
Volume de amostra	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado; para obter mais informações ver www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Tubos de amostra primários	Ver www.qiagen.com/goto/dsphandbooks para mais informações
Tubos de amostra secundários	Ver www.qiagen.com/goto/dsphandbooks para mais informações
Introdutores	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado; para obter mais informações ver www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Outro	É necessária mistura de ARN transportador-tampão AVE; a utilização de controlo interno é opcional

Bandeja "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagente (Reagent cartridge, RC)
Posição B1	n/a
Suporte de pontas 1-17	Pontas com filtro descartáveis, 200 µl
Suporte de pontas 1-17	Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl
Suporte de caixa de unidades 1-4	Caixas de unidades contendo cartuchos de preparação de amostras
Suporte de caixa de unidades 1-4	Caixas de unidades contendo mangas de 8 barras.

n/a = não aplicável.

Bandeja "Waste" (Resíduos)

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

Bandeja "Eluate" (Eluato)

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

Material de plástico necessário

	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*
Pontas com filtro descartáveis, 200 µl ^{††}	30	54	78	102
Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl ^{††}	101	182	271	354
Cartuchos de preparação de amostras [§]	21	42	63	84
Mangas de 8 barras [¶]	3	6	9	2

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

[†] Estão disponíveis 32 pontas com filtro/suporte de pontas.

^{††} O número de pontas com filtro necessárias inclui pontas com filtro para 1 inventariação por cartucho de reagente.

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

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

Nota: O número de pontas com filtro pode diferir dos números visualizados no ecrã tátil, dependendo das definições, por exemplo, dependendo do número de controlos internos utilizados por lote.

Volume de eluição selecionado

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

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

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

Preparação de mistura de controlo interno–ARN transportador (CARRIER)–tampão AVE (AVE)

Volume de eluição selecionado (µl)	Volume ARN transportador de stock (CARRIER) (µl)	Volume controlo interno (µl)*	Volume Tampão AVE (AVE) (µl)	Volume final por amostra (µl)
60	2,5	9	108,5	120
85	2,5	11,5	106	120
110	2,5	14	103,5	120

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

Nota: Os valores apresentados na tabela dizem respeito à preparação da mistura de controlo interno–ARN transportador (CARRIER) para um ensaio a jusante que necessite de 0,1 µl de controlo interno/µl eluato.

Os tubos com mistura de controlo interno–ARN transportador (CARRIER)–tampão AVE (AVE) são colocados num porta-tubos. O porta-tubos com mistura(s) de controlo interno–ARN transportador (CARRIER)–tampão AVE (AVE) tem de ser colocado na ranhura A da gaveta "sample" (amostra).

Dependendo do número de amostras a processar, recomendamos a utilização de tubos de 2 ml (Sarstedt, n.º cat. 72.693 ou 72.694) ou tubos de base redonda de 14 ml 17 x 100 mm em polistireno (Becton Dickinson, n.º cat. 352051) para diluir o controlo interno, tal como descrito na tabela abaixo. O volume pode ser repartido por 2 ou mais tubos.

Calcular o volume da mistura de controlo interno

Tipo de tubo	Nome no ecrã táctil QIASymphony	Cálculo do volume da mistura de controlo interno/ARN transportador (CARRIER)–tampão AVE (AVE) por tubo
Microtubo 2 ml com tampa; microtubo de 2 ml, PP, COM SAIA, (Sarstedt, n.º cat. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtubo de 2 ml com tampa; microtubo de 2 ml, PP, SEM SAIA, (Sarstedt, n.º cat. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tubo de base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm em polistireno (Becton Dickinson, n.º cat. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utilizar esta equação para calcular o volume necessário de mistura de controlo interno (n = número de amostras; 120 µl = volume de mistura de controlo interno–ARN transportador (CARRIER)–tampão AVE (AVE); 360 µl = volume morto necessário por tubo). Por exemplo, para 12 amostras ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. Não encher o tubo com mais de 1,9 ml (ou seja, um máximo de 12 amostras por tubo). Se forem processadas mais de 12 amostras, utilizar mais tubos, garantindo que o volume morto é acrescentado por tubo.

† Utilizar esta equação para calcular o volume necessário de mistura de controlo interno–ARN transportador (CARRIER)–tampão AVE (AVE) (n = número de amostras; 120 µl = volume da mistura de controlo interno–ARN transportador (CARRIER)–tampão AVE (AVE); 600 µl = volume morto necessário por tubo). Por exemplo, para 96 amostras ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12.120 \mu\text{l}$.

Ver www.qiagen.com/goto/dsphandbooks relativamente aos introduutores necessários.

Utilização de material de laboratório FIX

A utilização de deteção de nível líquido (liquid-level detection, LLD) para a transferência de amostra permite o recurso a tubos primários e secundários. Contudo, isso requer determinados volumes mortos nos respetivos tubos. A fim de minimizar os volumes mortos, devem ser usados tubos secundários sem deteção de nível líquido. Está disponível material de laboratório FIX específico (por ex. SAR_FIX_#72.694 T2.0 ScrewSkirt), que também pode ser selecionado no ecrã tátil do QIAsymphony SP. Este tipo de tubo/suporte impõe restrições em termos de aspiração. A amostra é aspirada a uma determinada altura no tubo, definida pelo volume da amostra a ser transferida. Por isso, é fundamental garantir que é usado o volume que consta na lista do material de laboratório. As listas do material de laboratório estão disponíveis para transferência em www.qiagen.com/goto/dsphandbooks.

Os tubos de amostra que podem ser utilizados com ou sem deteção de nível líquido e os volumes de amostra necessários estão listados em www.qiagen.com/goto/dsphandbooks. Não utilizar volumes superiores ou inferiores ao volume necessário, dado que isso pode dar origem a erros durante a preparação da amostra.

Os tubos para utilizar com deteção de nível líquido e os tubos que não se destinam à deteção de nível líquido podem ser processados num único lote/ensaio.

Preparação do material de amostra

Ao trabalhar com substâncias químicas, usar sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (safety data sheets, SDS) apropriadas, disponíveis no fornecedor do produto.

Amostras de plasma, soro e LCR

O procedimento de purificação é otimizado para utilização com amostras de plasma, soro ou LCR. As amostras de sangue tratadas com EDTA ou citrato como anticoagulante podem ser utilizadas para preparação do plasma. As amostras podem ser recém-colhidas ou congeladas, desde que não tenham sido congeladas e descongeladas mais de uma vez. Depois da colheita e da centrifugação, o plasma, o soro ou o LCR podem ser armazenados a 2–8 °C durante até 6 horas. Para armazenamento mais prolongado, recomendamos que as alíquotas sejam congeladas a –20 °C ou –80 °C. O plasma ou o soro congelados não podem ser descongelados mais de uma vez. Os congelamentos e os descongelamentos repetidos provocam a desnaturação e a

precipitação de proteínas, resultando numa potencial redução dos títulos virais e, consequentemente, numa redução dos rendimentos de ácidos nucleicos virais. Se estiverem visíveis nas amostras crioprecipitados, centrifugar a 6800 x g durante 3 minutos, transferir os sobrenadantes para tubos novos sem perturbar os pellets e iniciar o procedimento de purificação imediatamente. A centrifugação a forças g baixas não reduz os títulos virais.

Limitações

As amostras de sangue tratadas com ativador de coágulos séricos pode provocar uma redução dos rendimentos de ácidos nucleicos virais. Não utilizar os tubos para colheita de sangue Greiner Bio-One® VACUETTE® contendo ativador de coágulos de soro Z.

Histórico de revisões

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

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

Marcas comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (Grupo QIAGEN); BD™ (Becton Dickinson and Company); Falcon® (Corning, Inc.); Bio-One®, VACUETTE® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Os nomes registados, as marcas comerciais etc. utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados como tal, não devem ser considerados como não protegidos por lei.
12/2017 HB-0301-S33-002 © 2017 QIAGEN, todos os direitos reservados.

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