

Dezembro 2017

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

## Protocolo Cellfree500\_V5\_DSP

O presente documento consiste na *ficha de protocolo Cellfree500\_V5\_DSP* do QIASymphony SP, R2, para o QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versão 1.

## Informações gerais

O QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit destina-se ao uso no diagnóstico in vitro.

<b>Kit</b>	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
<b>Material de amostra*</b>	Plasma, soro e CSF
<b>Nome do protocolo</b>	Cellfree500_V5_DSP
<b>Conjunto padrão de controle de teste</b>	ACS_Cellfree500_V5_DSP_default_IC
<b>Editável</b>	Volume da substância eluída: 60 µl, 85 µl, 110 µl
<b>Versão de software necessária</b>	Versão 4.0 ou superior

Para obter informações adicionais, consulte "Preparo de material de amostra" e "Limitações", na página 5.

## Gaveta "Sample" (Amostra)

<b>Tipo de amostra</b>	Plasma, soro e CSF
<b>Volume de amostra</b>	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado. Para mais informações, acesse <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Tubos de amostra primários</b>	Consulte o site <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> para obter mais informações
<b>Tubos de amostra secundários</b>	Consulte o site <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> para obter mais informações
<b>Introdutores</b>	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado. Para mais informações, acesse <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a>
<b>Outros</b>	Necessária mistura de RNA transportador-tampão AVE. 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 (Reagent cartridge, RC)
<b>Posição B1</b>	n/a
<b>Suporte de rack para ponteiras, 1-17</b>	Ponteiras com filtro descartáveis, 200 µl
<b>Suporte de rack para ponteiras, 1-17</b>	Ponteiras com filtro descartáveis, 1500 µl
<b>Suporte de caixa unitária, 1-4</b>	Caixas unitárias com cartuchos de preparo de amostra
<b>Suporte de caixa unitária, 1-4</b>	Caixas unitárias contendo 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

## Gaveta "Eluate" (Eluição)

Rack de eluição (recomenda-se utilizar a fenda 1, na posição de resfriamento)	Consulte o site <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphanbooks">www.qiagen.com/goto/dsphanbooks</a> para obter mais informações
---	--

## 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†	32	56	80	104
Ponteiras com filtro descartáveis, 1500 µl†	109	198	297	386
Cartuchos de preparo de amostra§	21	42	63	84
Tampas de 8 hastes¶	3	6	9	12

\* O uso de mais de um controle interno por lote e a execução de mais de uma verificação de inventário exige ponteiras com filtro descartáveis adicionais. O uso de 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. Por exemplo, o número de controles internos utilizados por lote.

## Volume de eluição selecionado

Volume de eluição selecionado (µl)*	Volume de eluição inicial(µl) <sup>†</sup>
60	90
85	115
110	140

\* O volume de eluição 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 necessário para garantir que o volume real de eluído seja igual ao volume selecionado.

## Preparação da mistura de controle interno, RNA transportador (TRANSPORTADOR) e tampão Buffer AVE (AVE)

Volume de eluição selecionado (µl)	Volume de RNA transportador (CARRIER) concentrado (µl)	Volume de controle interno (µl)*	Volume de tampão AVE (AVE) (µl)	Volume final por amostra (µl)
60	5	9	106	120
85	5	11,5	103,5	120
110	5	14	101	120

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

**Nota:** Os valores exibidos na tabela são para a preparação da mistura de controle interno e RNA transportador (TRANSPORTADOR) para um ensaio posterior que requer 0,1 µl de controle interno por µl de eluído.

Os tubos que contêm a mistura de controle interno, RNA transportador (TRANSPORTADOR) e tampão AVE (AVE) são colocadas em um porta-tubos. O porta-tubos que contém a(s) mistura(s) de controle interno, RNA transportador (TRANSPORTADOR) e tampão AVE (AVE) devem ser colocados na fenda A da gaveta de amostra.

Dependendo do número de amostras a serem processadas, recomendamos utilizar tubos de 2 ml (Sarstedt, n° cat.. 72.693 ou 72.694) ou tubos de poliestireno com fundo redondo de 14 ml 17 x 100 mm (Becton Dickinson, Ref. 352051) para a diluição do controle interno, como descreve a tabela abaixo. O volume pode ser dividido em 2 ou mais tubos.

## Cálculo do volume da mistura de controle interno

Tipo de tubo	Nome na tela sensível ao toque do QIAAsymphony	Cálculo do volume de mistura de controle interno, RNA transportador (TRANSPORTADOR) e tampão Buffer AVE (AVE) por tubo
Microtubo de 2 ml com tampa; microtubo de 2 ml, PP, SKIRTED, (Sarstedt, Ref. 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, NON-SKIRTED, (Sarstedt, Ref. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tubo de 14 ml, 17 x 100 mm, poliestireno, fundo redondo (Becton Dickinson, Ref. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

\* Use a seguinte equação para calcular o volume necessário de mistura de controle interno ( $n$  = número de amostras;  $120 \mu\text{l}$  = volume de mistura de controle interno, RNA transportador (TRANSPORTADOR) e tampão AVE (AVE);  $360 \mu\text{l}$  = 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 encha o tubo com mais do que 1,9 ml (ou sejam, no máximo 12 amostras por tubo). Se mais de 12 amostras serão processadas, use tubos adicionais, assegurando que o volume morto seja adicionado em cada tubo.

† Use a seguinte equação para calcular o volume necessário de mistura de controle interno, RNA transportador (TRANSPORTADOR) e tampão AVE (AVE) ( $n$  = número de amostras;  $120 \mu\text{l}$  = volume da mistura de controle interno, RNA transportador (TRANSPORTADOR) e tampão AVE (AVE);  $600 \mu\text{l}$  = volume morto necessário por tubo). Por exemplo, para 96 amostras ( $n = 96$ ):  $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$ .

Consulte o site [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) para obter os folhetos necessários.

## Preparo de material de amostra

Ao trabalhar com produtos químicos, sempre use um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (safety data sheets, SDSs) disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

### Amostras de plasma, soro e CSF

O procedimento de purificação é otimizado para uso com amostras de plasma, soro ou CSF. As amostras de sangue tratadas com EDTA ou citrato como anticoagulante podem ser utilizadas para o preparo do plasma. As amostras devem ser frescas ou congeladas, desde que sejam congeladas e descongeladas apenas uma vez. Após a coleta e a centrifugação, o plasma ou o CSF podem ser armazenados a 2 a 8 °C por até 6 horas. Para armazenamento prolongado, recomenda-se congelar porções a -20 °C ou -80 °C. O plasma ou soro congelado não devem ser descongelados mais de uma vez. O congelamento e descongelamento repetitivo causa desnaturação e a precipitação de proteínas, resultando em potencial redução de títulos virais, portanto, reduzindo os rendimentos dos ácidos nucleicos virais. Se os crioprecipitados estiverem visíveis nas amostras, centrifugue a 6800 x g durante 3 minutos, transfira os sobrenadantes para tubos limpos sem mexer nos grânulos, e inicie o procedimento de purificação imediatamente. A centrifugação a força g baixa não reduz os títulos virais.

## Limitações

Amostras de sangue tratadas com ativador de coágulo sérico podem causar redução do rendimento dos ácidos nucleicos virais. Não utilize tubos de coleta de sangue Greiner Bio-One® VACUETTE® contendo ativador de coágulo sérico Z.

## 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® (Grupo QIAGEN); BD™ (Becton Dickinson and Company); Falcon® (Corning, Inc.); Bio-One®, VACUETTE® (Greiner Bio-One GmbH); 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-0301-S34-002 © 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)