

# Folha de protocolo do QIAasymphony® SP

## Protocolo PC\_AXpH\_HC2\_V1\_DSP

### Finalidade da utilização

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Este protocolo foi desenvolvido para utilização com amostras cervicais armazenadas em Solução PreservCyt® utilizando o QIAasymphony SP e o QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit. Os eluatos resultantes do ADN estão prontos para análise com o *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.

**Importante:** Ler o Manual do QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit (*QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit Handbook*) e as instruções de utilização do *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test antes de utilizar este protocolo.

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

<b>Kit</b>	QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit (cat. n.º 937156)
<b>Material para amostra</b>	Amostras citológicas cervicais de base líquida armazenadas em Solução PreservCyt
<b>Nome do protocolo</b>	PC_AXpH_HC2_V1_DSP
<b>Conjunto de controlo do ensaio predefinido</b>	ACS_PC_AXpH_HC2_V1_DSP
<b>Volume da amostra*</b>	Necessários 4 ml de volume de amostra Processados 2 ml de volume de amostra
<b>Volume de eluato</b>	Aproximadamente 60 µl
<b>Versão de software necessária</b>	Versão 4.0

\* O QIAasymphony SP aspira 2 ml de amostra do fundo do tubo de amostra. São necessários, pelo menos, 4 ml de volume da amostra para a extracção de ADN para uma amostra marcada "valid" (válida). Amostras com um volume inferior a 4 ml, mas superior a 1,5 ml, resultarão num amostra marcada "unclear" (imprecisa). Amostras com um volume inferior a 1,5 ml, resultarão num amostra marcada "invalid" (inválida). As amostras "unclear" ou "invalid" não são aceitáveis para análise com o *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.



Julho 2012

## Materiais necessários, mas não fornecidos

### Material de plástico carregado no QIA Symphony SP

	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*
<b>Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl†</b>	80	152	224	296
<b>Cartuchos de preparação de amostras</b>	9	18	27	36
<b>Mangas de 8 barras</b>	3	6	9	12

\* A realização de mais do que 1 inventariação requer pontas com filtro descartáveis adicionais. A utilização de menos do que 24 amostras por lote diminui o número de pontas com filtro descartáveis necessárias por ensaio.

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

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

### Materiais adicionais

Consultar no Manual do QIA Symphony DSP AXpH DNA Kit para informações adicionais sobre os seguintes materiais:

- Tubos de base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm em polistireno (Becton Dickinson)
- Microplaca de base em U em polistireno com 96 poços (Greiner)
- Tampas das microplacas
- Sacos de eliminação de pontas
- Adaptador de arrefecimento, MTP, RB, Qsym
- Vórtex

## Manuseamento e armazenamento de amostras

As amostras PreservCyt podem ser armazenadas até 3 meses entre 2 e 30 °C antes de serem processadas.

## Procedimento

### Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- Não processar um tubo de amostra mais do que uma vez, embora exista volume suficiente. Descartar o restante volume no tubo de amostra; não guardar. As células nas amostras citológicas de base líquidas sedimentam rapidamente. O QIAasymphony SP aspira uma fracção de amostra enriquecida a partir de um volume de entrada de amostra de 4 ml, aspirando 2 ml do fundo do tubo de amostra.
- Na microplaca de eluatos, a primeira coluna está reservada para os calibradores e controlos de qualidade fornecidos com o *digene* HC2 High-Risk HPV DNA Test.
- Não utilizar uma ID de placa com o QIAasymphony SP que já tenha sido utilizado com o software de análise de ensaio *digene*. Se a ID da placa já existir no software de análise de ensaio *digene*, o software irá solicitar uma nova entrada ou requerer que o utilizador cancele a importação do mapa de placa.
- Não utilizar uma ID de placa superior a 20 caracteres de comprimento ou uma ID de amostra superior a 30 caracteres de comprimento. Se a entrada for superior ao número máximo de caracteres especificado, durante a importação do mapa de placa o software de análise do ensaio *digene* irá solicitar uma nova entrada ou requerer que o utilizador cancele a importação do mapa de placa.
- Ao criar a ID da amostra ou da placa, cumprir os requisitos que se seguem para assegurar a compatibilidade com o software de análise de ensaio *digene* :
  - Não utilizar um espaço antes ou após a ID
  - Não utilizar caracteres sensíveis a maiúsculas/minúsculas para diferenciar as IDs
  - Utilizar apenas caracteres alfanuméricos, hífen e espaços para criar uma ID
- Ao analisar uma amostra como parte do algoritmo de novo ensaio, a ID da amostra deve ser exactamente igual à ID da amostra original que foi analisada. Se a ID da amostra não for exactamente igual, durante a importação do mapa de placa o software de análise de ensaio *digene* não irá atribuir a ID da amostra adequadamente a partir da lista de amostras não atribuídas.

- Caso esteja a ser utilizada uma ID de controlo de qualidade, tal como define o software de análise de ensaio *digene*, como uma ID de amostra no QIASymphony SP, a marcação da amostra como “valid”, “unclear” ou “invalid”, juntamente com todos os comentários do QIASymphony SP não serão transferidos durante a importação do mapa de placa. A marcação e comentários do processamento do QIASymphony SP devem ser introduzidos manualmente no software de análise de ensaio *digene*.

## Carregar o QIASymphony SP

### Bandeja "Waste" (resíduos)

<b>Suporte de caixa de unidades 1–4</b>	Caixas de unidades vazias
<b>Suporte de saco de resíduos</b>	Saco de resíduos
<b>Suporte do frasco de resíduos líquidos</b>	Frasco de resíduos líquidos vazio
<b>Suporte do colector de pontas</b>	Colector de pontas
<b>Estação de armazenamento das pontas</b>	Estação de armazenamento das pontas vazia

### Bandeja "Reagents and Consumables" (reagentes e consumíveis)

<b>Posição A1 e/ou A2</b>	Cartucho de reagente (RC)
<b>Posição B1</b>	Frasco de líquido TopElute (TOPE)
<b>Suporte de pontas 1–17</b>	Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl
<b>Suporte de caixa de unidades 1–4</b>	Caixas de unidades contendo cartuchos de preparação de amostras
<b>Suporte de caixa de unidades 1–4</b>	Caixa de unidades contendo mangas de 8 barras

### Bandeja "Eluate" (eluato)

<b>Suporte de eluição (utilizar ranhura 1, posição de arrefecimento)</b>	Microplaca de base em U em polistireno com 96 poços com Adaptador de arrefecimento, MTP, RB, Qsym
--	---

## Preparação da amostra

Equilibrar as amostras à temperatura ambiente (15–30 °C) antes de preparar material de amostra. Transferir amostras para tubos de amostra mesmo antes de iniciar o ensaio.

1. **Para cada amostra, etiquetar um tubo de base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm em polistireno. Colocar, alternativamente, um código de barras no tubo.**
2. **No devido porta-tubos, colocar os tubos de amostra na ordem em que serão colocados na placa de eluatos. Orientar os códigos de barras para a esquerda, para que possam ser lidos pelo leitor de códigos de barras, conforme aplicável.**
3. **Manusear uma amostra de cada vez, agitar vigorosamente o frasco de amostra PreservCyt manualmente durante 5 a 10 segundos. Alternativamente, misturar com um vórtex à velocidade máxima durante 5 a 10 segundos.**
4. **Imediatamente, uma vez que as células assentam rapidamente, remover a tampa do frasco de amostra PreservCyt e pipetar 4 ml da amostra no fundo do frasco de amostra correspondente no porta-tubos.**

Pipetar para o fundo do tubo da amostra minimiza a aderência do material celular ao interior do tubo da amostra.

Para assegurar uma transferência de amostra fiável no QIA Symphony SP, evitar a formação de espuma nos tubos de amostra.

5. **Voltar a colocar a tampa no frasco de amostra PreservCyt.**
6. **Repetir para cada amostra adicional, conforme aplicável.**
7. **Colocar o porta-amostras na bandeja "Sample" (amostra).**
8. **Continuar com o procedimento, tal como está descrito no manual.**

## Armazenamento de eluatos

No final de cada ensaio, remover a microplaca de eluatos contendo os eluatos directamente da posição de arrefecimento da bandeja "Eluate" (eluato) no QIA Symphony SP. Cobrir a microplaca de eluatos com uma tampa de microplaca e armazenar. Os eluatos podem ser armazenados durante 7 dias entre 2 e 8 °C cobertos com uma tampa de microplaca.



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

Marcas registadas: QIAGEN®, QIASymphony®, *digene*® (QIAGEN Group); PreservCyt® (Hologic, Inc.).

Nomes registados, marcas comerciais, etc. utilizados neste documento, quando não assinalados como tal, não devem ser considerados como não protegidos por Lei.

© 2012 QIAGEN. Todos os direitos reservados.

