

# Instruções de uso (Ficha de protocolo) do QIASymphony<sup>®</sup> DSP Virus/Pathogen Kit

Protocolo Complex800\_V6\_DSP

Versão 2



Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit



937055



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemanha

R1

A ficha de protocolo está disponível eletronicamente e pode ser encontrada na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Informações gerais

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

|  |  |
|--|--|
| <b>Kit</b>   | QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit      |
| Material de amostra  | Amostras respiratórias e urogenitais         |
| Nome do protocolo  | Complex800_V6_DSP                            |
| Conjunto de controles de ensaio padrão                               | ACS_Complex800_V6_DSP_default_IC             |
| Editável   | Volume da substância eluída: 60, 85 e 110 µl |
| Versão de software necessária  | Versão 4.0 ou superior                       |
| Configuração de software necessária para uso em diagnóstico in vitro | Perfil padrão 1                              |

## Gaveta "Sample" (Amostra)

|                              |   |
|------------------------------|---|
| <b>Tipo de amostra</b>       | Urina, esfregaços urogenitais (em meios de transporte, por ex., PreservCyt®, UTM, eNAT™) e esfregaços respiratórios (esfregaços secos ou em meios de transporte, por ex., UTM, eNAT)  |
| Volume de amostra            | Depende do tipo de tubo de amostra usado; para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> |
| Volume de amostra processado | Consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> para obter mais informações  |
| Tubos de amostra primários   | Consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> para obter mais informações  |
| Tubos de amostra secundários | Depende do tipo de tubo de amostra usado; para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> |
| Introdutores                 | Depende do tipo de tubo de amostra usado; para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> |
| Outro                        | Mistura de RNA carreador-Buffer AVE necessária; o uso do controle interno é opcional  |

## Gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

|                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| <b>Posição A1 e/ou A2</b>            | Cartucho de reagentes (RC)                           |
| Posição B1                           | Buffer ATL (ATL)                                     |
| Suporte de rack para ponteiras, 1–17 | Ponteiras com filtro descartáveis, 200 µl            |
| Suporte de rack para ponteiras, 1–17 | Ponteiras com filtro descartáveis, 1500 µl           |
| Suporte de caixa unitária, 1–4       | Caixas unitárias com cartuchos de preparo de amostra |
| Suporte de caixa unitária, 1–4       | Caixas unitárias contendo 8-Rod Covers               |

## Gaveta "Waste" (Resíduos)

|  |                                 |
|--|---------------------------------|
| <b>Suporte de caixa unitária, 1–4</b>      | 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)

Para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Materiais plásticos necessários

| Materiais plásticos              | Um lote<br>24 amostras* | Dois lotes<br>48 amostras* | Três lotes<br>72 amostras* | Quatro lotes<br>96 amostras* |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Disposable filter-tips, 200 µl†  | 34                      | 60                         | 86                         | 112                          |
| Disposable filter-tips, 1500 µl† | 123                     | 205                        | 295                        | 385                          |
| Sample prep cartridges§          | 18                      | 36                         | 54                         | 72                           |
| 8-Rod Covers¶                    | 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.

† 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 CR.

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

¶ Há doze 8-Rod Covers 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                            |

\* O volume de eluição selecionado na tela sensível ao toque. Esse é o volume mínimo acessível de eluato 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 carreador (CARRIER) e Buffer AVE (AVE)

| Volume de eluição selecionado (µl) | Volume de RNA carreador (CARRIER) concentrado (µl) | Volume de controle interno (µl)* | Volume de Buffer AVE (AVE) (µl) | Volume final por amostra (µl) |
|------------------------------------|--|----------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 60                                 | 3  | 9                                | 108                             | 120                           |
| 85                                 | 3  | 11,5                             | 105,5                           | 120                           |
| 110                                | 3  | 14                               | 103                             | 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 a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) para obter mais informações.

Nota: Os valores exibidos na tabela são para a preparação da mistura de controle interno e RNA carreador (CARRIER) 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 carreador (CARRIER) e Buffer AVE (AVE) são colocadas em um porta-tubos. Tubos containing internal controlO porta-tubos que contém a(s) mistura(s) de controle interno, RNA carreador (CARRIER) e Buffer AVE (AVE) devem ser colocados na fenda A da gaveta de amostra.

Dependendo do número de amostras a serem processadas, recomendamos o uso de tubos de 2 ml (Sarstedt®, n° de ref. 72.693 ou 72.694) ou tubos de poliestireno com fundo redondo de 14 ml com 17 x 100 mm (BD™, n° de ref. 352051) para a diluição do controle interno, conforme descrito na 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 QIASymphony | Cálculo do volume de mistura de controle interno, RNA carreador (CARRIER) e Buffer AVE (AVE) por tubo |
|--|---|---|
| Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, n° de ref. 72.694)     | SAR#72.694<br>T2.0 ScrewSkirt                 | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$  |
| Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt, n° de ref. 72.693) | SAR#72.693<br>T2.0 Screw                      | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$  |
| Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD§, n° de ref. 352051)              | BD#352051<br>FalconPP 17x100                  | $(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$  |

\* Use esta equação para calcular o volume necessário de mistura de controle interno ( $n$  = número de amostras;  $120 \mu\text{l}$  = volume de mistura de controle interno, RNA carreador (CARRIER) e Buffer 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 de 1,9 ml (ou seja, 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 carreador (CARRIER) e Buffer AVE (AVE) ( $n$  = número de amostras;  $120 \mu\text{l}$  = volume da mistura de controle interno, RNA carreador (CARRIER) e Buffer AVE (AVE);  $600 \mu\text{l}$  = volume morto necessário por tubo). Por exemplo, para 96 amostras ( $n = 96$ ):  $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$ .

§ BD era o fornecedor anterior desse tubo e Corning Inc. é agora o novo fornecedor.

Para obter os introdutórios necessários, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página do produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Como utilizar material de laboratório FIX

O uso da detecção de nível do líquido (liquid-level detection, LLD) para transferência de amostras possibilita o uso de tubos primários e secundários. No entanto, isso exige que se deixe determinados volumes mortos nos respectivos tubos. Para minimizar volumes mortos, devem ser utilizados tubos secundários sem detecção do nível de líquido. O material de laboratório FIX específico está disponível (por ex., SAR\_FIX\_#72.694 T2.0 ScrewSkirt) e também pode ser selecionado na tela sensível ao toque do QIASymphony SP. Esse tipo de tubo ou rack impõe restrições de aspiração. A amostra é aspirada em uma determinada altura no tubo que é definido pelo volume de amostra a ser transferida. Portanto, é essencial assegurar que o volume listado na lista de material de laboratório seja utilizado. A lista de materiais de laboratório está disponível para download em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) na guia de recursos da página de produto.

Os tubos de amostra que podem ser usados com ou sem detecção do nível de líquido e os volumes de amostra necessários também estão listados na lista de materiais de laboratório disponível em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) na guia de recursos da página de produto. Não use volumes superiores ou inferiores ao volume necessário, pois isso pode levar a erros durante o preparo de amostras.

Os tubos para detecção de nível do líquido e os tubos que não se destinam à detecção de nível do líquido podem ser processados em um lote ou execução.

## 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 folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

Evite a formação de espuma nas amostras ou sobre elas. Dependendo do material inicial, poderá ser necessário um pré-tratamento das amostras. As amostras devem ser equilibradas à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar a execução.

Nota: A estabilidade de amostra depende muito de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para os QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. O usuário é responsável por consultar as instruções de uso da aplicação a jusante específica usada em seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

Para recomendações gerais sobre coleta, transporte e armazenamento, consulte a diretriz aprovada MM13-A do CLSI "Coleta, transporte, preparação e armazenamento de espécimes para métodos moleculares". Além disso, as instruções do fabricante para o dispositivo/kit de coleta de amostras selecionado devem ser seguidas durante o preparo, armazenamento, transporte e manuseio geral de amostras.

## Urina

A urina pode ser armazenada a 2–8 °C por até 6 horas. Para o armazenamento prolongado, recomendamos o congelamento a -20 °C ou -80 °C. A urina pode ser processada sem pré-tratamento adicional. Transfira a amostra para um tubo de 2 ml Sarstedt (n° de ref. 72.693 ou 72.694) e coloque-a dentro do porta-tubos. Ou, como alternativa, podem ser utilizados tubos primários. O volume mínimo inicial necessário pode variar, dependendo do tubo primário utilizado. Os formatos compatíveis de tubos primários e secundários, incluindo o volume mínimo inicial necessário para cada protocolo, estão listados na lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). O sistema é otimizado para amostras de urina pura que não contêm conservantes. Para aumentar a sensibilidade a patógenos bacterianos, as amostras podem ser centrifugadas. Após descartar o sobrenadante, o grânulo pode ser suspenso novamente em, pelo menos, 800 µl de Buffer ATL (ATL) (n° de ref. 939016). Transfira a amostra para um tubo de 2 ml Sarstedt (n° de ref. 72.693 ou 72.694). Coloque a amostra no porta-tubos e processe-a utilizando o protocolo Complex800\_V6\_DSP e o material de laboratório FIX necessário.

## Isolamento de DNA genômico de bactérias Gram-positivas

A purificação do DNA pode ser aprimorada para algumas bactérias Gram-positivas por meio de pré-tratamento enzimático antes da transferência para o QIASymphony SP e do início do protocolo Complex800\_V4\_DSP.

1. Peletize as bactérias por centrifugação a 5000 x g durante 10 minutos.
2. Suspenda o pellet bacteriano em 900 µl da solução enzimática apropriada (20 mg/ml de lisozima ou 200 µg/ml de lisostapina em 20 mM de Tris-HCl, pH 8,0; 2 mM de EDTA; 1,2% de Triton X-100).
3. Incube a 37 °C por, pelo menos, 30 minutos.
4. Centrifugue brevemente o tubo para remover as gotas do interior da tampa.
5. Transfira a amostra para um tubo de 2 ml Sarstedt (n° de ref. 72.693 ou 72.694), coloque-a no porta-tubos e continue o protocolo Complex800\_V6\_DSP e o material de laboratório FIX necessário.

## Amostras viscosas ou de mucosas

Algumas amostras podem ser viscosas e precisar de liquefação para permitir a pipetagem. Amostras com baixa viscosidade não precisam de preparação adicional. Amostras com média a alta viscosidade devem ser preparadas da seguinte maneira:

1. Dilua a amostra 1:1 com 0,3% (w/v) de ditioneitol (DTT).

Nota: A solução de 0,3 % de DTT pode ser feita antecipadamente e armazenada a -20°C em porções apropriadas. As porções descongeladas devem ser descartadas após o uso.

2. Incube a 37 °C até que a viscosidade da amostra esteja adequada para pipetagem.
3. Transfira pelo menos 900 µl da amostra para um tubo de 2 ml Sarstedt (n° de ref. 72.693 ou 72.694). Processe a amostra usando o protocolo Complex800\_V6\_DSP.

## Esfregaços secos de fluidos ou secreções corporais

1. Submerja a ponta do esfregaço seco em 1150 µl de Buffer ATL (ATL) (n° de ref. 939016) e incube a 56 °C durante 15 minutos, misturando continuamente. Se não for possível misturar, agite em vórtex antes e depois da incubação por, pelo menos, 10 segundos.
2. Remova o esfregaço e esprema todo o líquido pressionando o esfregaço contra o interior do tubo.
3. Transfira pelo menos 900 µl da amostra para um tubo de 2 ml Sarstedt (n° de ref. 72.693 ou 72.694). Processe a amostra com o protocolo Complex800\_V6\_DSP.

Nota: Este protocolo é otimizado para esfregaços de algodão ou polietileno. Ao utilizar outros esfregaços, pode ser necessário ajustar o volume do Buffer ATL (ATL) para garantir que pelo menos 900 µl seja disponibilizado como material de amostra.

## Esfregaços respiratórios ou urogenitais

Esfregaços urogenitais (em meios de transporte, por ex., PreservCyt, UTM, eNAT) e esfregaços respiratórios (esfregaços secos ou em meios de transporte, por ex., UTM, eNAT) podem ser armazenados a 2–8 °C por até 6 horas. Para o armazenamento prolongado, recomendamos o congelamento a -20 °C ou -80 °C.

Meios de armazenamento para esfregaços respiratórios ou urogenitais podem ser utilizados sem pré-tratamento. Se o esfregaço não foi removido, pressione-o contra a lateral do tubo para espremer o líquido. Qualquer excesso de muco no espécime deve ser removido nesse momento, coletando-o no esfregaço. Qualquer líquido residual do muco e do esfregaço deve então ser espremido pressionando o esfregaço contra a lateral do tubo. Por fim, o esfregaço e o muco devem ser removidos e descartados. Se as amostras forem viscosas, realize uma etapa de liquefação (consulte a seção "Amostras viscosas ou de mucosas") antes de transferir a amostra para o QIASymphony SP. Se não houver material inicial suficiente, pipete o Buffer ATL (ATL) dentro do meio para transporte para ajustar o volume mínimo inicial necessário e agite fortemente a amostra durante 15–30 segundos no tubo (se o meio para transporte contém o esfregaço, realize esta etapa antes de remover o esfregaço). Transfira a amostra para um tubo de 2 ml Sarstedt (n° de ref. 72.693 ou 72.694) e coloque-a no porta-tubos. Ou, como alternativa, podem ser utilizados tubos primários. O volume mínimo inicial necessário pode variar, dependendo do tubo primário utilizado. Os tubos primários e secundários compatíveis, incluindo o volume mínimo inicial necessário para cada protocolo, estão listados na lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Limitações e substâncias interferentes

Não foi observado nenhum impacto negativo significativo de substâncias potencialmente interferentes (para obter detalhes, consulte o documento Características de desempenho aplicável disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

Nota: Os testes foram realizados usando aplicações a jusante exemplares para uma avaliação da qualidade dos ácidos nucleicos extraídos. Contudo, as diferentes aplicações a jusante podem ter requisitos diferentes em relação à pureza (ou seja, a ausência de substâncias potencialmente interferentes), assim, a identificação e o teste de substâncias relevantes também precisam ser estabelecidos como parte do desenvolvimento de aplicações a jusante para qualquer fluxo de trabalho envolvendo os QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kits.

## Armazenamento de eluatos

Nota: A estabilidade do eluato depende muito de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para os QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kits em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. O usuário é responsável por consultar as instruções de uso da aplicação a jusante específica usada em seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

Para o armazenamento a curto prazo até 24 horas, recomendamos o armazenamento de ácidos nucleicos purificados a 2–8 °C. Para o armazenamento a longo prazo durante mais de 24 horas, recomendamos o armazenamento a -20 °C.

## Símbolos

Os seguintes símbolos aparecem neste documento. Para obter uma lista completa dos símbolos usados nestas instruções de uso ou na embalagem e etiqueta, consulte o manual.

| Símbolo   | Definição do símbolo  |
|---|---|
|  | Este produto atende aos requisitos do Regulamento Europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro. |
|  | Dispositivo médico de diagnóstico in vitro  |
|  | Número de referência  |
| Rn  | R representa a revisão das Instruções de uso e n representa o número de revisão                                       |
|  | Fabricante  |

## Histórico de revisões

| Revisão           | Descrição  |
|-------------------|--|
| R1, junho de 2022 | Versão 2, Revisão 1 <ul style="list-style-type: none"><li>• Atualização para a versão 2 para conformidade com o IVDR</li><li>• Extensão da seção Preparo de material de amostra</li><li>• Adição da seção Limitações e substâncias interferentes</li><li>• Adição da seção Armazenamento de eluatos</li><li>• Adição da seção Símbolos</li></ul> |

Para obter informações atualizadas sobre licenças e avisos legais específicos de produtos, consulte o manual do usuário ou o manual do respectivo kit QIAGEN®. Os manuais do usuário e os manuais de kits QIAGEN estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitados à Assistência Técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Marcas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); PreservCyt® (Hologic, Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Os nomes registrados, as marcas registradas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser considerados protegidos pela lei.  
06/2022 HB-3028-S05-001 © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.