

# Folha de protocolo QIASymphony SP

## Protocolo Complex800\_FIX\_V2 (validado pelo utilizador)

### Informações gerais

**Nota:** É da responsabilidade do utilizador validar o desempenho aplicando esta combinação para todos os procedimentos usados no seu laboratório.

|  |  |
|--|--|
| <b>Kit</b>                                       | Kit QIASymphony® DSP Virus/Pathogen Midi |
| <b>Material de amostra</b>                       | Amostras respiratórias e urogenitais     |
| <b>Nome do protocolo</b>                         | Complex800_FIX_V2                        |
| <b>Conjunto de controlo de teste predefinido</b> | ACS_Complex800_FIX_V2_default_IC         |
| <b>Editável</b>                                  | Volume de eluição: 60 µl, 85 µl, 110 µl  |
| <b>Versão de software necessária</b>             | Versão 2.1                               |

### Gaveta "Sample" (Amostra)

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| <b>Tipo de amostra</b>              | Amostras respiratórias (LBA, exsudados secos, meios de transporte, aspirados, expectoração) e amostras urogenitais (urina, meios de transporte)                        |
| <b>Volume da amostra</b>            | Depende do tipo de tubo de amostra usado; para obter mais informações, consulte <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> |
| <b>Tubos primários de amostra</b>   | Consulte <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> para obter mais informações  |
| <b>Tubos secundários de amostra</b> | Consulte <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> para obter mais informações  |
| <b>Insertos</b>                     | Depende do tipo de tubo de amostra usado; para obter mais informações, consulte <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> |
| <b>Outros</b>                       | Necessária mistura de RNA transportador (CARRIER)-tampão AVE; a utilização de controlo interno é opcional  |



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

|                                     |   |
|-------------------------------------|---|
| <b>Posição A1 e/ou A2</b>           | Cartucho de reagentes (RC)                                    |
| <b>Posição B1</b>                   | Tampão ATL  |
| <b>Porta-suporte de pontas 1-17</b> | Pontas com filtro descartáveis, 200 µl                        |
| <b>Porta-suporte de pontas 1-17</b> | Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl                       |
| <b>Porta-caixa unitária 1-4</b>     | Caixas unitárias contendo cartuchos de preparação de amostras |
| <b>Porta-caixa unitária 1-4</b>     | Caixas unitárias contendo tampas de 8 varetas                 |

## Gaveta "Waste" (Resíduos)

|   |                                   |
|---|-----------------------------------|
| <b>Porta-caixa unitária 1-4</b>           | Caixas unitárias vazias           |
| <b>Porta-sacos de resíduos</b>            | Saco de resíduos                  |
| <b>Porta-frascos de resíduos líquidos</b> | Frasco de resíduos líquidos vazio |

## Gaveta "Eluate" (Eluato)

|   |   |
|---|---|
| <b>Suporte de eluição (recomendamos a utilização do slot 1, posição de arrefecimento)</b> | Consulte <a href="http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks">www.qiagen.com/goto/dsphandbooks</a> para obter mais informações |
|---|---|

## Material de plástico necessário

|  | Um lote,<br>24 amostras* | Dois lotes, 48<br>amostras* | Três lotes,<br>72 amostras* | Quatro lotes,<br>96 amostras* |
|--|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| Pontas com filtro descartáveis,<br>200 µl†‡  | 96                       | 96                          | 128                         | 128                           |
| Pontas com filtro descartáveis,<br>1500 µl†‡ | 192                      | 256                         | 352                         | 448                           |
| Cartuchos de preparação de amostras§         | 18                       | 36                          | 54                          | 72                            |
| Tampas de 8 varetas¶                         | 3                        | 6                           | 9                           | 12                            |

\* A utilização de mais do que um controlo interno por lote e a realização de mais de uma leitura do conteúdo (inventário) carece de pontas com filtro descartáveis adicionais. A utilização de menos de 24 amostras por lote reduz a quantidade de pontas com filtro descartáveis por ciclo.

† Há 32 pontas com filtro/suporte de pontas.

‡ A quantidade de pontas com filtro necessárias inclui pontas com filtro para 1 leitura do conteúdo (inventário) por cartucho de reagente.

§ Há 28 cartuchos de preparação de amostras/caixa unitária.

¶ Há doze tampas de 8 varetas/caixa unitária.

**Nota:** A quantidade de pontas com filtro indicada pode ser diferente da que aparece no ecrã táctil, dependendo de definições, por exemplo, da quantidade de controlos internos usados por lote.

## Volume de eluição seleccionado

| Volume de eluição seleccionado ( $\mu\text{l}$ )* | Volume de eluição inicial ( $\mu\text{l}$ )* |
|---|--|
| 60  | 90   |
| 85  | 115  |
| 110   | 140  |

\* O volume de eluição seleccionado no ecrã táctil. Este é o volume mínimo acessível de eluato no tubo de eluição final.

† O volume inicial de solução de eluição necessário para garantir que o volume efectivo de eluato corresponde ao volume seleccionado.

## Preparação de controlo interno–RNA transportador (CARRIER)

| Volume de eluição seleccionado ( $\mu\text{l}$ ) | Volume de solução-mãe de RNA transportador (CARRIER) ( $\mu\text{l}$ ) | Volume de controlo interno ( $\mu\text{l}$ )* | Volume de tampão AVE (AVE) ( $\mu\text{l}$ ) | Volume final por amostra ( $\mu\text{l}$ ) |
|--|--|---|--|--|
| 60   | 3  | 9   | 108  | 120  |
| 85   | 3  | 11,5  | 105,5  | 120  |
| 110  | 3  | 14  | 103  | 120  |

\* O cálculo da quantidade de controlo interno é baseado nos volumes de eluição iniciais. O volume de espaço vazio depende do tipo de tubo de amostra usado; consulte [www.qiagen.com/goto/dsphandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphandbooks) para obter mais informações.

**Nota:** Os valores mostrados na tabela destinam-se à preparação de mistura de controlo interno–RNA transportador (CARRIER) para um teste a jusante que necessite de 0,1  $\mu\text{l}$  de controlo interno/ $\mu\text{l}$  eluato.

## Protocolos FIX

A detecção do nível de líquido não é usada em protocolos FIX. Isto garante uma utilização ideal do volume da amostra disponível. No entanto, isto significa que o QIAAsymphony SP não tem forma de verificar o volume da amostra, nem de se certificar de que existe efectivamente uma amostra presente. Por isso, é importante que as posições das amostras no respectivo suporte contenham exactamente 820 µl. Não utilize volumes superiores a 820 µl, dado que isso poderá provocar erros durante a preparação de amostras.

## Preparação do material de amostra

Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consulte as fichas de segurança (MSDS) adequadas, disponíveis no fornecedor do produto.

### Urina

A urina pode ser processada sem outros pré-tratamentos. Transfira a amostra para um tubo Sarstedt de 2 ml (ref.º 72.693 ou 72.608) e coloque a amostra no transportador de tubos. Em alternativa, podem ser usados tubos primários. O volume inicial mínimo necessário pode variar em função do tubo primário usado. Os formatos de tubos primário e secundário compatíveis, incluindo o volume inicial mínimo necessário para cada protocolo, estão listados em [www.qiagen.com/goto/dsphanhandbooks](http://www.qiagen.com/goto/dsphanhandbooks). O sistema está optimizado para amostras de urina pura que não contenham conservantes. Para aumentar a sensibilidade a agentes patogénicos bacterianos, as amostras podem ser centrifugadas. Depois de eliminado o sobrenadante, o pellet pode ser ressuspenso em, pelo menos, 820 µl de tampão ATL (ref.º 939011). Transfira 820 µl da amostra para um tubo Sarstedt de 2 ml (ref.º 72.693 ou 72.608). Coloque a amostra no transportador de tubos e processe-a com o protocolo Complex800\_FIX\_V2.

### Isolamento de ADN genómico de bactérias Gram-positivas

A purificação de ADN pode ser melhorada para algumas bactérias Gram-positivas através de pré-tratamento enzimático antes da transferência da amostra para o QIAAsymphony SP e do início do protocolo Complex800\_FIX\_V2.

- 1. Forme um pellet de bactérias por centrifugação a 5000 x g (7500 rpm numa microcentrífuga), durante 10 min.**
- 2. Suspenda o pellet bacteriano em 820 µl da solução enzimática indicada (20 mg/ml de lisozima ou 200 µg/ml de lisostafina; 20 mM Tri-HCl, pH 8.0; 2 mM EDTA; Triton a 1,2 %).**
- 3. Incube a 37 °C durante, pelo menos, 30 min.**
- 4. Centrifugue o tubo, durante breves instantes, para remover gotas do interior da tampa.**

5. **Transfira 820 µl da amostra para um tubo Sarstedt de 2 ml (ref.º 72.693 ou 72.608), coloque a amostra no transportador de tubos e prossiga com o protocolo Complex800\_FIX\_V2.**

## **Amostras viscosas ou de muco**

Algumas amostras (por ex., expectoração, aspirados respiratórios) podem ser viscosas e precisam de liquefação para permitir a pipetagem. As amostras de baixa viscosidade não precisam de outra preparação. As amostras de viscosidade média a alta devem ser preparadas da seguinte forma.

1. **Dilua a amostra 1:1 com Sputasol<sup>†</sup> (Oxoid, ref.º SR0233) ou DTT a 0,3 % (p/v).**

**Nota:** A solução de DTT a 0,3% (p/v) pode ser feita antecipadamente e guardada em alíquotas a -20°C. Elimine as alíquotas descongeladas depois de usar.

2. **Incube a 37 °C até a viscosidade da amostra ser apropriada para pipetagem.**
3. **Transfira, pelo menos, 820 µl da amostra para um tubo Sarstedt de 2 ml (ref.º 72.693 ou 72.608). Processe a amostra usando o protocolo Complex800\_FIX\_V2.**

## **Exsudados de fluidos e secreções corporais secos**

1. **Mergulhe a ponta do cotonete seco em 1150 µl de tampão ATL (ref.º 939011), e incube a 56 °C, durante 15 min, mexendo sempre. Se a mistura não for possível, agite em vórtice antes e depois da incubação, durante, pelo menos, 10 s.**
2. **Retire o cotonete e faça sair todo o líquido comprimindo o cotonete contra o interior do tubo.**
3. **Transfira, pelo menos, 820 µl da amostra para um tubo Sarstedt de 2 ml (ref.º 72.693 ou 72.608). Processe a amostra com o protocolo Complex800\_FIX\_V2.**

**Nota:** Este protocolo está otimizado para cotonetes de algodão ou de polietileno. Ao usar outros cotonetes, pode ser necessário ajustar o volume de tampão ATL para garantir que, pelo menos, 820 µl ficam disponíveis como material de amostra.

## **Exsudados respiratórios ou urogenitais**

Podem ser usados meios de armazenamento para exsudados respiratórios ou urogenitais sem pré-tratamento. Se o cotonete não tiver sido retirado, comprima-o contra a parede do tubo para fazer sair o líquido. Todo o excesso de muco na amostra deve ser retirado nesta altura por meio de um cotonete. Todos os resíduos líquidos do muco e o cotonete têm de ser retirados comprimindo o cotonete contra a parede do tubo. Por fim, o cotonete e o muco devem ser retirados e eliminados.

\* Sputasol (Oxoid, ref.º SR0233, [www.oxoid.com](http://www.oxoid.com)) ou ditiotreititol (DTT).

† Não se trata de uma lista completa de fornecedores nem inclui muitos distribuidores importantes de produtos biológicos.

Se as amostras forem viscosas, realize um passo de liquefacção (veja “Amostras viscosas ou mucosas” acima) antes de transferir a amostra para o QIASymphony SP. Se o material inicial não for suficiente, pipete tampão ATL no meio de transporte para ajustar o volume inicial mínimo necessário e agite em vórtice a amostra durante 15–30 s no tubo (se o meio de transporte contiver o cotonete, realize este passo antes de retirar o cotonete). Transfira 820 µl da amostra para um tubo Sarstedt de 2 ml (ref.ª 72.693 ou 72.608) e coloque a amostra no transportador de tubos.

Os manuais QIAGEN podem ser solicitados junto da Assistência Técnica ou do distribuidor local da QIAGEN. Os manuais seleccionados podem ser descarregados em [www.qiagen.com/literature](http://www.qiagen.com/literature). As fichas de segurança (MSDSs) para qualquer produto QIAGEN podem ser descarregadas em [www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx](http://www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx).

Marcas registadas: QIAGEN®, QIASymphony® (Grupo QIAGEN).  
© 2010 QIAGEN. Todos os direitos reservados.

[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)

**Australia** ■ 1-800-243-800

**Austria** ■ 0800/281010

**Belgium** ■ 0800-79612

**Canada** ■ 800-572-9613

**China** ■ 021-51345678

**Denmark** ■ 80-885945

**Finland** ■ 0800-914416

**France** ■ 01-60-920-930

**Germany** ■ 02103-29-12000

**Hong Kong** ■ 800 933 965

**Ireland** ■ 1800 555 049

**Italy** ■ 800 787980

**Japan** ■ 03-5547-0811

**Korea (South)** ■ 1544 7145

**Luxembourg** ■ 8002 2076

**The Netherlands** ■ 0800 0229592

**Norway** ■ 800-18859

**Singapore** ■ 65-67775366

**Spain** ■ 91-630-7050

**Sweden** ■ 020-790282

**Switzerland** ■ 055-254-22-11

**UK** ■ 01293-422-911

**USA** ■ 800-426-8157



---

Sample & Assay Technologies