

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.

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

Gaveta "Sample" (Amostra)

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



Gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

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

Gaveta "Waste" (Resíduos)

Porta-caixa unitária 1-4	Caixas unitárias vazias
Porta-sacos de resíduos	Saco de resíduos
Porta-frascos de resíduos líquidos	Frasco de resíduos líquidos vazio

Gaveta "Eluate" (Eluato)

Suporte de eluição (recomendamos a utilização do slot 1, posição de arrefecimento)	Consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks para obter 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†‡	96	96	128	128
Pontas com filtro descartáveis, 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 tátil, dependendo de definições, por exemplo, da quantidade de controlos internos usados por lote.

Volume de eluição seleccionado

Volume de eluição seleccionado (μ l)*	Volume de eluição inicial (μ 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 (μ l)	Volume de solução-mãe de RNA transportador (CARRIER) (μ l)	Volume de controlo interno (μ l)*	Volume de tampão AVE (AVE) (μ l)	Volume final por amostra (μ 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 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 μ l de controlo interno/ μ 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 QIASymphony 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 μ l. Não utilize volumes superiores a 820 μ l, 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. 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 μ l de tampão ATL (ref.º 939011). Transfira 820 μ l 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 QIASymphony 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 μ l da solução enzimática indicada (20 mg/ml de lisozima ou 200 μ g/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[†] (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) ou ditiotreitól (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. As fichas de segurança (MSDSs) para qualquer produto QIAGEN podem ser descarregadas em www.qiagen.com/Support/MSDS.aspx.

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

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