

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.

Kit	QIAasymphony DSP AXpH DNA Kit (cat. n.º 937156)
Material para amostra	Amostras citológicas cervicais de base líquida armazenadas em Solução PreservCyt
Nome do protocolo	PC_AXpH_HC2_V1_DSP
Conjunto de controlo do ensaio predefinido	ACS_PC_AXpH_HC2_V1_DSP
Volume da amostra*	Necessários 4 ml de volume de amostra Processados 2 ml de volume de amostra
Volume de eluato	Aproximadamente 60 µl
Versão de software necessária	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*
Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl†	80	152	224	296
Cartuchos de preparação de amostras	9	18	27	36
Mangas de 8 barras	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)

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

Bandeja "Reagents and Consumables" (reagentes e consumíveis)

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

Bandeja "Eluate" (eluato)

Suporte de eluição (utilizar ranhura 1, posição de arrefecimento)	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 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.

