

Instruções de uso (Ficha de protocolo) do QIAsymphony[®] DSP Virus/Pathogen Kit

Protocolo Cellfree200_V7_DSP

Versão 2



Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit



REF

937036



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.

Informações gerais

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

Kit	QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit
Material de amostra	Plasma, soro e CSF
Nome do protocolo	Cellfree200_V7_DSP
Conjunto de controles de ensaio padrão	ACS_Cellfree200_V7_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)

Tipo de amostra	Plasma, soro e CSF
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 www.qiagen.com
Volume de amostra processado	Consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com 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 www.qiagen.com 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 www.qiagen.com
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 www.qiagen.com
Outro	Mistura de RNA carreador-Buffer AVE necessária; o uso do controle interno é opcional

Gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagentes (RC)
Posição B1	n/a
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

n/a = não aplicável.

Gaveta "Waste" (Resíduos)

Suporte de caixa unitária, 1–4	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.

Materiais plásticos necessários

Materiais plásticos	Um lote 24 amostras*	Dois lotes 48 amostras*	Três lotes 72 amostras*	Quatro lotes 96 amostras*
Disposable filter-tips, 200 µl†	30	54	78	102
Disposable filter-tips, 1500 µl††	101	182	271	354
Sample prep cartridges§	21	42	63	84
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	2,5	9	108,5	120
85	2,5	11,5	106	120
110	2,5	14	103,5	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 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 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 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 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.

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 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 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 QIA Symphony 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.

Amostras de plasma, soro e CSF

O procedimento de purificação é otimizado para uso com amostras de plasma, soro ou CSF. As amostras de sangue tratadas com EDTA ou citrato como anticoagulante podem ser utilizadas para o preparo do plasma. As amostras devem ser frescas ou congeladas, desde que sejam congeladas e descongeladas apenas uma vez. Após a coleta e a centrifugação, o plasma e o soro podem ser armazenados a 2–8 °C por até 6 horas.

Para o armazenamento prologando, recomendamos congelar as alíquotas a -20 °C ou -80 °C. O plasma ou soro congelado não deve ser descongelado mais de uma vez. O congelamento e descongelamento repetitivo causa desnaturação e a precipitação de proteínas, resultando em potencial redução de títulos virais, portanto, reduzindo os rendimentos dos ácidos nucleicos virais. Se os crioprecipitados estiverem visíveis nas amostras, centrifugue a 6800 x g durante 3 minutos, transfira os sobrenadantes para tubos novos sem agitar os pellets e inicie o procedimento de purificação imediatamente. A centrifugação a força g baixa não reduz os títulos virais.

Limitações e substâncias interferentes

Amostras de sangue tratadas com ativador de coágulo sérico podem causar redução do rendimento dos ácidos nucleicos virais. Não use tubos de coleta de sangue Greiner Bio-One® Vacuette® que contenham Z Serum Clot Activator.

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).

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 QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kits.

Nota: De acordo com a ISO 20186-2:2019(E), a heparina dos tubos de coleta de sangue pode afetar a pureza dos ácidos nucleicos isolados e um possível carryover nos eluatos pode causar inibições em algumas aplicações a jusante. Portanto, recomendamos o uso de amostras de sangue tratadas com EDTA ou citrato como anticoagulante para a preparação do plasma.





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 QIA Symphony 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">• Atualização para a versão 2 para conformidade com o IVDR• Extensão da seção Preparo de material de amostra• Adição da seção Limitações e substâncias interferentes• Adição da seção Armazenamento de eluatos• Adição da seção Símbolos

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 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); Bio-One®, Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH); 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-S07-001 © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.