

Manual do kit *artus*[®] HCV QS-RGQ



24 (n.º de catálogo 4518363)



72 (n.º de catálogo 4518366)

Versão 1

IVD

Diagnóstico in vitro quantitativo

Para utilização com os instrumentos QIA Symphony[®] SP/AS e Rotor-Gene[®] Q



REF

4518363, 4518366



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA

R6

MAT

1060924PT



QIAGEN Sample and Assay Technologies

A QIAGEN é o principal fornecedor de tecnologias inovadoras de amostragem e ensaio, permitindo o isolamento e a detecção do conteúdo de qualquer amostra biológica. Os produtos e serviços avançados e de elevada qualidade da nossa empresa são garantia de sucesso, desde a amostra ao resultado.

A QIAGEN é uma empresa de referência em matéria de:

- Purificação de ADN, ARN e proteínas
- Ensaio de ácidos nucleicos e proteínas
- Investigação em microARN e ARNi
- Automatização de tecnologias de amostragem e ensaio

A nossa missão é permitir ao utilizador alcançar um grande sucesso, bem como resultados notáveis. Para obter mais informações, visite www.qiagen.com.

Índice

Utilização prevista	4
Sumário e explicação	4
Informação sobre o agente patogénico	5
Materiais fornecidos	6
Conteúdo do kit	6
Materiais necessários, mas não fornecidos	7
Avisos e precauções	7
Precauções gerais	8
Armazenamento e manuseamento de reagentes	8
Manuseamento e armazenamento de amostras	9
Procedimento	10
Preparação dos instrumentos QIAAsymphony SP/AS para utilização	10
Purificação de ARN viral	10
Usar um controlo interno e ARN transportador (CARRIER)	10
Conjuntos de controlo do ensaio e conjuntos de parâmetros de ensaio	10
Retornos de ácidos nucleicos	11
Armazenamento de ácidos nucleicos	11
Protocolos	
■ Isolamento do ARN e configuração do ensaio no QIAAsymphony SP/AS	12
■ RT-PCR no Rotor-Gene Q	17
Interpretação de resultados	18
Guia de resolução de problemas	18
Controlo da qualidade	24
Limitações	24
Características de desempenho	24
Referências	25
Símbolos	25
Informações de contacto	26
Informações para encomenda	27

Utilização prevista

O kit *artus* HCV QS-RGQ é um teste de amplificação de ácidos nucleicos in vitro, para a quantificação de ARN do vírus da hepatite C (VHC) no plasma humano tratado com EDTA. Este kit de teste diagnóstico utiliza reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) e está configurado para ser utilizado com os instrumentos QIASymphony SP/AS e Rotor-Gene Q.

O kit *artus* HCV QS RGQ destina-se a ser utilizado juntamente com apresentação clínica e outros marcadores de laboratório para prognóstico de doença e para utilização como auxiliar na avaliação da resposta viral ao tratamento antiviral, quantificada com base nos níveis de ARN de VHC em plasma humano tratado com EDTA. O kit *artus* HCV QS-RGQ não foi concebido para utilização como teste de despistagem do VHC ou como um teste diagnóstico para confirmar a presença de infecção pelo VHC.



Para obter mais informações sobre amostras biológicas humanas específicas com as quais o kit foi validado, consultar as Folhas de Aplicação, disponíveis online em www.qiagen.com/products/artushcvmrgpckitce.aspx.

Uma vez que a QIAGEN monitoriza continuamente o desempenho dos ensaios e valida novas reclamações, pede-se aos utilizadores que verifiquem se estão a trabalhar com a última revisão das instruções de utilização.



Verificar a disponibilidade de novas revisões de rotulagem eletrónica em www.qiagen.com/products/artushcvmrgpckitce.aspx antes da realização do teste.

Todos os kits podem ser usados com os respetivos elementos de instrução, desde que o número de versão do manual e outras informações de rotulagem correspondam ao número de versão do kit. O número de versão é visível em cada rótulo da caixa do kit. A QIAGEN assegura a compatibilidade entre todos os lotes do kit de teste com o mesmo número de versão.

Sumário e explicação

O kit *artus* HCV QS-RGQ é um sistema pronto a usar para a deteção de ARN de VHC através da reação em cadeia da polimerase (PCR) nos instrumentos Rotor-Gene Q, com preparação da amostra e configuração de ensaio utilizando os instrumentos QIASymphony SP/AS. Os Hep. C Virus RG Master A e B contêm reagentes e enzimas para a amplificação específica de uma região

de 240 pb do genoma do VHC e para a detecção direta do amplicon específico no canal de fluorescência Cycling Green do Rotor-Gene Q.

Além disso, o kit *artus* HCV QS-RGQ contém um segundo sistema de amplificação heterólogo para identificar uma possível inibição da PCR. Esta inibição é detetada como um controlo interno (IC) no canal de fluorescência Cycling Orange do Rotor-Gene Q. O limite de detecção da PCR de VHC analítica não é reduzido. São fornecidos controlos positivos externos (Hep. C Virus RG QS 1–4) que permitem a determinação da quantidade de ARN viral. Para mais informações, consultar a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Informação sobre o agente patogénico

A hepatite C é uma inflamação do fígado causada pelo vírus com o mesmo nome. Ao contrário dos outros vírus da hepatite A, B, D ou E, a infeção com o vírus da hepatite C (VHC) leva, num grande número de casos, a doença crónica do fígado. Muitas vezes, uma infeção por VHC não produz sintomas durante um período de tempo relativamente longo. Por este motivo, a maior parte dos doentes nem sabe que está infetada com o VHC. Mas é precisamente nas fases iniciais da doença que a terapia é mais eficaz. Atualmente, o interferão α (em combinação com Ribavirina) é o único tratamento comprovadamente eficaz. No entanto, também se sabe que apenas alguns doentes com hepatite C crónica respondem à terapia com interferão. Daí que, em determinadas circunstâncias, este tratamento dispendioso do doente possa ser desfavorável e ter efeitos secundários graves, como seja a debilitação do sistema imunitário, levando a exacerbações (por ex., herpes labial, herpes zóster/zona). (1–4)

Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

artus HCV QS-RGQ Kit		(24)	(72)
N.º de catálogo		4518363	4518366
Número de reações		24	72
Azul	Hep. C Virus RG Master A	4 x 144 µl	8 x 144 µl
Violeta	Hep. C Virus RG Master B	4 x 216 µl	8 x 216 µl
Vermelho	Hep. C Virus RG QS 1* (10 ⁴ IU/µl)	QS 200 µl	200 µl
Vermelho	Hep. C Virus RG QS 2* (10 ³ IU/µl)	QS 200 µl	200 µl
Vermelho	Hep. C Virus RG QS 3* (10 ² IU/µl)	QS 200 µl	200 µl
Vermelho	Hep. C Virus RG QS 4* (10 ¹ IU/µl)	QS 200 µl	200 µl
Verde	Hep. C Virus RG IC†	IC 1000 µl	2 x 1000 µl
Branco	Água (grau PCR)	1000 µl	1000 µl
	<i>artus HCV QS-RGQ Kit Handbook (Manual do kit artus HCV QS-RGQ) (inglês)</i>	1	1

* Padrão de quantificação.

†Controlo interno.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Ao trabalhar com produtos químicos, usar sempre equipamento de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (SDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

- Pipetas (ajustáveis)* e pontas de pipetas estéreis com filtros
- Misturador vórtex*
- Centrífuga de bancada* com rotor para tubos de ensaio de 2 ml, com capacidade para centrifugação a 6800 x g

Para preparação de amostras

- QIASymphony SP instrument (Instrumento QIASymphony SP) (n.º cat. 9001297)*
- QIASymphony AS instrument (Instrumento QIASymphony AS) (n.º cat. 9001301)*

Para PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM*†
- Software para Rotor-Gene Q, versão 2.1 ou superior
- Opcional: Rotor-Gene AssayManager versão 1.0 ou superior

Nota: As informações adicionais acerca dos materiais necessários para aplicações específicas encontram-se na folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Avisos e precauções

Para utilização em diagnóstico in vitro

Ao trabalhar com produtos químicos, usar sempre equipamento de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (SDSs) adequadas. Estas estão disponíveis online no formato PDF, prático e compacto, no endereço

*Assegurar que os instrumentos foram verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

†Se aplicável, instrumento Rotor-Gene Q 5plex HRM com uma data de fabrico de janeiro de 2010 ou posterior. A data de fabrico pode ser obtida a partir do número de série que se encontra na parte posterior do instrumento. O número de série encontra-se no formato "mmaannn" em que "mm" indica o mês de fabrico em dígitos, "aa" indica os últimos dois dígitos do ano de fabrico e "nnn" indica o identificador exclusivo do instrumento.

www.qiagen.com/safety onde é possível encontrar, visualizar e imprimir as fichas de dados de segurança para cada kit QIAGEN® e respectivos componentes.

Para informações de segurança relativas à purificação do kit usado, consulte o manual do respectivo kit. Para informações de segurança relativas aos instrumentos, consulte o manual do utilizador dos respectivos instrumentos.

Eliminar as amostras e os resíduos do ensaio de acordo com os regulamentos de segurança locais.

Precauções gerais

Ter sempre em atenção as seguintes recomendações:

- Utilizar pontas de pipetas estéreis com filtros.
- Durante as etapas manuais, sempre que possível, manter os tubos fechados e evitar contaminação.
- Descongelar completamente todos os componentes à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de dar início a um ensaio.
- Assim que estiverem descongelados, misturar os componentes (pipetando repetidamente para cima e para baixo ou aplicando impulsos no vórtex) e centrifugar brevemente. Assegurar que não há espuma ou bolhas nos tubos de reagentes.
- Não misturar componentes dos kits com números de lotes diferentes.
- Assegurar que os adaptadores necessários são pré-arrefecidos para 2–8 °C.
- Trabalhar com rapidez e manter os reagentes da PCR em gelo ou no bloco de arrefecimento antes de proceder ao respectivo carregamento.
- Avançar continuamente entre etapas do procedimento. O tempo de transferência entre cada módulo (QIASymphony SP para QIASymphony AS para Rotor-Gene Q) não deverá demorar mais de 30 minutos.

Armazenamento e manuseamento de reagentes

Os componentes do Kit *artus* HCV QS-RGQ devem ser armazenados entre –15 e –30 °C e são estáveis até ao prazo de validade impresso no rótulo. Deve evitar-se repetir o processo de descongelamento e congelamento (>2 vezes), uma vez que isso pode reduzir o desempenho do ensaio.

Manuseamento e armazenamento de amostras

As informações acerca do manuseamento e armazenamento das amostras para aplicações específicas encontram-se na folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Procedimento

Preparação dos instrumentos QIA Symphony SP/AS para utilização

Fechar todas as bandejas e coberturas.

Ligue os instrumentos QIA Symphony SP/AS e aguarde até que o ecrã “Sample Preparation” (Preparação da amostra) apareça e o procedimento de inicialização fique completo.

Aceder ao instrumento (as bandejas serão desbloqueadas).

Purificação de ARN viral

O kit *artus* HCV QS-RGQ foi validado com um passo de purificação de ARN viral realizado no QIA Symphony SP utilizando um kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen. Ver o *Manual do QIA Symphony DSP Virus/Pathogen* para todas as informações sobre a preparação do cartucho de reagentes para o passo de purificação de amostras no QIA Symphony SP.

Usar um controlo interno e ARN transportador (CARRIER)

A utilização dos kits QIA Symphony DSP Virus/Pathogen em combinação com o kit *artus* HCV QS-RGQ requer a introdução do controlo interno (Hep. C Virus RG IC) no procedimento de purificação para monitorizar a eficiência da preparação da amostra e ensaios a jusante. Além disso, os kits QIA Symphony DSP Virus/Pathogen podem exigir a preparação de um ARN transportador (CARRIER). Para obter informações específicas relativas ao controlo interno e a utilização de ARN portador (CARRIER), consultar a folha de aplicação relevante em

www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Conjuntos de controlo do ensaio e conjuntos de parâmetros de ensaio

Os conjuntos de controlo do ensaio são uma combinação de um protocolo com parâmetros adicionais, tais como o controlo interno, para purificação da amostra no QIA Symphony SP. Um conjunto de controlo do ensaio predefinido é pré-instalado para cada protocolo.

Os conjuntos de parâmetros de ensaio são a combinação de uma definição de ensaio com parâmetros adicionais definidos, tais como modelos de replicação

e número de padrões de ensaio, para configuração de ensaio no QIA Symphony AS.

Para corridas integradas no QIA Symphony SP/AS, o conjunto de parâmetros de ensaio é diretamente ligado ao conjunto de controlo do ensaio adiantado especificando o processo de purificação da amostra associado.

Retornos de ácidos nucleicos

Os eluatos preparadas com ARN transportador (CARRIER) podem conter mais ARN transportador (CARRIER) do que ácidos nucleicos alvo. Recomendamos a utilização de métodos de amplificação quantitativos para determinar os retornos.

Armazenamento de ácidos nucleicos

Para o armazenamento a curto prazo até 24 horas, recomendamos o armazenamento dos ácidos nucleicos purificados a 2–8 °C. Para o armazenamento a longo prazo superior a 24 horas, recomendamos o armazenamento a –20 °C.

Protocolo: Isolamento do ARN e configuração do ensaio no QIA Symphony SP/AS

A descrição que se segue é um protocolo geral para utilização dos kits QIA Symphony DSP Virus/Pathogen. Informações detalhadas para uma aplicação específica, incluindo volumes e tubos, são fornecidas na folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- Assegurar que o utilizador está familiarizado com o modo de funcionamento dos instrumentos QIA Symphony SP/AS. Consultar os manuais do utilizador fornecidos com os instrumentos e as versões mais atuais disponíveis online em www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx para as instruções de funcionamento.
- Antes de utilizar um cartucho de reagente (RC) pela primeira vez, verifique se os tampões QSL2 e QSB1 no cartucho (RC) não contêm um precipitado. Se necessário, remover as cavidades que contêm os tampões QSL2 e QSB1 do cartucho de reagente (RC) e incubar, durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional para dissolver o precipitado. Assegurar que as cavidades são novamente colocadas nas posições corretas. Se o cartucho de reagente (RC) já estiver perfurado, assegurar que as cavidades são seladas com tiras vedantes reutilizáveis e proceder à incubação do cartucho de reagente completo (RC), durante 30 minutos, a 37 °C com agitação ocasional em banho-maria.*
- Tentar evitar a agitação vigorosa do cartucho de reagente (RC), caso contrário poderá formar-se espuma que pode levar a problemas de deteção do nível líquido.
- Trabalhar com rapidez e manter os reagentes da PCR em gelo ou no bloco de arrefecimento antes de proceder ao respetivo carregamento.
- Os volumes de reagentes estão otimizados para 24 ou 72 reações por kit por ensaio (n.º cat. 4518363 e 4518366, respetivamente).
- Antes de cada utilização, todos os reagentes têm de ser completamente descongelados, misturados (por pipetagem repetida para cima e para baixo ou por ação rápida do vórtex) e centrifugados durante, pelo menos, 3 segundos a 6800 x g. Evitar a formação de espuma nos reagentes.

*Assegurar que os instrumentos foram objeto de verificação, manutenção e calibração regulares, de acordo com as recomendações do fabricante.

- Os eluatos da preparação da amostra e todos os componentes do kit *artus* HCV QS-RGQ comprovaram a estabilidade no interior do instrumento durante, pelo menos, o tempo normal necessário para purificação de 96 amostras e configuração de 72 ensaios, incluindo um tempo de transferência de até 30 minutos do QIAasymphony SP para o QIAasymphony AS, e um tempo de transferência de até 30 minutos do QIAasymphony AS para o Rotor-Gene Q.

Outros aspetos importantes antes de iniciar o procedimento

- Preparar todas as misturas necessárias. Se necessário, preparar as misturas que contêm ARN transportador (CARRIER) e controlos internos imediatamente antes de iniciar o procedimento. Para mais informações, ver a respetiva folha de aplicação em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.
- Antes de iniciar o procedimento, assegure-se de que as partículas magnéticas estão completamente ressuspensas. Agite vigorosamente no vórtex a cavidade contendo as partículas magnéticas, durante, pelo menos, 3 minutos antes da primeira utilização.
- Antes de carregar o cartucho de reagente (RC), retire a tampa do depósito contendo as partículas magnéticas e abra os tubos de enzimas. Assegure-se de que o suporte de enzimas foi estabilizado à temperatura ambiente (15–25 °C).
- Assegure-se de que cobertura perfurável (PL) é colocada no cartucho de reagente (RC) e a cobertura da cavidade das partículas magnéticas foi removida, ou se for utilizado um cartucho de reagente (RC) parcialmente usado, assegurar-se de que a tira vedante reutilizável foi removida.
- Caso as amostras tenham códigos de barras, oriente as amostras no porta-tubos, de forma a que os códigos de barras fiquem virados na bandeja "Sample" (Amostra) para o lado esquerdo do QIAasymphony SP, onde se situa o leitor de códigos de barras.

Procedimento

Purificação de ARN viral no QIA Symphony SP

- 1. Fechar todas as bandejas e coberturas dos instrumentos QIA Symphony SP/AS.**
- 2. Ligar os instrumentos e aguardar até que o ecrã "Sample Preparation" apareça e o procedimento de inicialização esteja concluído.**

O interruptor de alimentação está localizado no canto inferior esquerdo do QIA Symphony SP.
- 3. Aceder aos instrumentos.**
- 4. Preparar as bandejas seguintes de acordo com a respetiva folha de aplicação em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.**
 - Bandeja "Waste" (Resíduos); depois de preparada, realizar uma inventariação.
 - Bandeja "Eluate" (Eluato); depois de preparada, realizar uma inventariação.
 - Bandeja "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis); depois de preparada, realizar uma inventariação.
 - Bandeja "Sample"
- 5. Utilizando a configuração "Integrated run" (Ensaio integrado) no ecrã tátil do QIA Symphony, introduzir as informações necessárias para cada lote de amostras a ser processado. Selecionar o conjunto de parâmetros de ensaio para a corrida e atribuir o lote correspondente às amostras.**

Para informações sobre o conjunto de parâmetros de ensaio e o volume de eluição pré-selecionado, ver a respetiva folha de aplicação.

Para informações sobre corridas integradas no QIA Symphony SP/AS, ver os manuais de utilizador dos instrumentos.
- 6. Ao configurar uma corrida integrada, verificar as atribuições corretas do material de laboratório das amostras, tipo de amostras (amostra, EC+ e EC-) e volumes.**

Para informações sobre consumíveis e componentes a carregar em cada bandeja, ver a respetiva folha de aplicação.
- 7. Depois de introduzidas todas as informações sobre a corrida integrada, clique no botão "Ok" (Ok) para sair da configuração "Integrated run". O estado de todos os lotes dentro da vista geral da corrida integrada muda de "LOADED" (Carregado) para "QUEUED" (Em fila). Assim que o lote é**

colocado em fila, o botão “Run” (Corrida) aparece. Prima o botão “Run” para dar início ao procedimento.

Todas as etapas de processamento são totalmente automatizadas.

Carregar as bandejas do QIASymphony AS para configuração do ensaio

- 8. Depois da colocação em fila de uma corrida integrada, abrir as bandejas QIASymphony AS. Os componentes que devem ser carregados são mostrados no ecrã tátil.**
- 9. Fazer sempre o seguinte antes da corrida integrada.**
 - Inserir o coletor de pontas
 - Eliminar o saco de resíduos de pontas
 - Instalar um saco vazio de resíduos de pontas
- 10. Definir e carregar o(s) suporte(s) de ensaio. O(s) suporte(s) de ensaio em adaptador(es) pré-arrefecido(s) são carregados na(s) ranhura(s) “Assay” (Ensaio). Para mais informações sobre os suportes de ensaio, ver a respetiva folha de aplicação em www.qiagen.com/products/artushcivrpgprkitce.aspx.**
- 11. Verificar a temperatura das posições de arrefecimento.**

Quando as temperaturas-alvo de arrefecimento são atingidas, o pequeno asterisco junto a cada ranhura acende-se a verde.
- 12. Juntar todos os tubos de HCV RG Master A num único kit num tubo antes de usar. Juntar todos os tubos de HCV RG Master B num único kit num tubo antes de usar.**

Nota: Os reagentes viscosos podem ser difíceis de manusear com pipetas manuais. Assegurar que a totalidade do volume do Master é transferida para o tubo.
- 13. Encher cada tubo de ensaio com o volume necessário de cada reagente de acordo com a informação de carregamento fornecida pelo software do instrumento.**

Nota: Antes de cada utilização, todos os reagentes têm de ser completamente descongelados, misturados (por pipetagem repetida para cima e para baixo ou por ação rápida do vórtex) e centrifugados durante, pelo menos, 3 segundos a 6800 x g. Evitar a formação de bolhas ou espuma, que poderão causar erros de deteção. Trabalhar com rapidez e manter os componentes de PCR em gelo ou no bloco de arrefecimento antes de proceder ao seu carregamento.
- 14. Carregar o suporte de reagente e colocar os tubos de reagente, sem as tampas, nas posições correspondentes dos adaptadores pré-arrefecidos para reagentes de acordo com a respetiva folha de aplicação.**

15. Carregar as bandejas “Eluate and Reagents” (Eluato e reagentes) e “Assays” (Ensaio) com pontas com filtro descartáveis de acordo com o número necessário para cada tipo de ponta indicado na respetiva folha de aplicação.
16. Fechar as bandejas “Eluate and Reagents” e “Assays”.
17. Ao fechar cada bandeja, premir “Scan” (Ler) para dar início à inventariação de cada bandeja.

A inventariação verifica ranhuras, adaptadores, pontas com filtro e coletor de pontas, bem como se o carregamento de determinados volumes de reagente está correto. Se necessário, corrigir eventuais erros.

A configuração do ensaio inicia-se automaticamente depois de concluído o passo de purificação no QIASymphony SP e de os suportes de eluato serem transferidos para o QIASymphony AS.

18. Após finalizar o ensaio, premir “Remove” (Remover) no ecrã “Overview” (Perspetiva geral) da configuração do ensaio. Abrir a bandeja “Assays” e descarregar o(s) suporte(s) de ensaio.
19. Efetuar a transferência dos ficheiros de resultados e do ciclador.
20. Se vários lotes no QIASymphony AS estiverem configurados numa corrida integrada, recarregar as bandejas do QIASymphony AS, começando no passo 8.
21. Prosseguir para “Protocolo: RT-PCR no Rotor-Gene Q”, página 17.
22. Efetuar a manutenção regular do QIASymphony AS durante ou após a corrida PCR no Rotor-Gene Q ou posterior.

Uma vez que o fluxo de trabalho é uma operação integrada, limpar todos os instrumentos no final do fluxo de trabalho.

Observar as instruções de manutenção no *Manual do utilizador QIASymphony SP/AS – Descrição Geral*. Assegurar que a manutenção é efetuada regularmente, de forma a minimizar o risco de contaminação cruzada.

Protocolo: RT-PCR no Rotor-Gene Q

Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- Familiarizar-se com o Rotor-Gene Q antes de dar início ao protocolo. Consultar o manual do utilizador do instrumento.
- Para a interpretação automática dos resultados PCR, pode ser usado o software Rotor-Gene AssayManager em vez do Rotor-Gene Q.
- Assegurar-se de que todos os 4 padrões de quantificação, bem como, pelo menos, um controlo negativo (água, grau de PCR) são incluídos por cada corrida PCR. Para criar uma curva padrão, usar todos os 4 padrões de quantificação fornecidos (Hep. C Virus RG QS 1–4) para cada ensaio de PCR.

Procedimento

1. Fechar os tubos de PCR e colocá-los no rotor de 72 poços do Rotor-Gene Q. Transferir as tiras de 4 tubos Rotor-Gene Q com a orientação correta, por forma a respeitar a correspondência entre os índices das posições do adaptador de arrefecimento e do rotor. Assegurar-se de que o anel de bloqueio (acessório do Instrumento Rotor-Gene) é colocado no topo do rotor para evitar a abertura acidental dos tubos durante a corrida.
2. Transfira o ficheiro do ciclador do QIASymphony AS para o computador Rotor-Gene Q.
3. Para a deteção de ARN do VHC, criar um perfil de temperatura e iniciar o ensaio de acordo com a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx. As informações específicas do software sobre a programação do Rotor-Gene Q são fornecidas na respetiva folha de protocolo "Settings to run *artus* QS-RGQ Kits" "Definições de corrida dos kits *artus* QSRGQ" em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Interpretação de resultados

Ver a respetiva folha de aplicação em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx para mais informações sobre a interpretação dos resultados.

Guia de resolução de problemas

Este guia de resolução de problemas pode ser útil para resolver qualquer problema que possa surgir. Os cientistas da Assistência Técnica da QIAGEN estão sempre prontos a responder a qualquer questão que possa ter sobre as informações e protocolos constantes deste manual ou sobre as tecnologias de amostragem e ensaio (para informações de contacto, consulte o verso do manual ou visite www.qiagen.com).

Comentários e sugestões

Manuseamento geral

Mensagem de erro visualizada no ecrã tátil

Se for visualizada uma mensagem de erro durante uma corrida do protocolo, consulte os manuais do utilizador que acompanham os instrumentos.

Precipitado na cavidade de reagente de cartucho aberto do kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen

- a) Evaporação do tampão A evaporação excessiva pode levar ao aumento da concentração salina ou à diminuição das concentrações de álcool em tampões. Eliminar o cartucho de reagente (RC). Assegurar que as cavidades do tampão de um cartucho de reagente (RC) parcialmente usado são vedadas com tiras vedantes reutilizáveis quando este não estiver a ser usado para purificação.

Comentários e sugestões

- b) Armazenamento do cartucho de reagente (RC)
- O armazenamento do cartucho de reagente (RC) a temperaturas inferiores a 15 °C pode conduzir à formação de precipitados. Se necessário, remover as cavidades que contêm os tampões QSL2 e QSB1 do cartucho de reagente (RC) e incubar em banho-maria* durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional para dissolver o precipitado. Assegurar que as cavidades são novamente colocadas nas posições corretas. Se o cartucho de reagente (RC) já estiver perfurado, assegurar que as cavidades são seladas com tiras vedantes reutilizáveis e proceder à incubação do cartucho de reagente (RC) completo em banho-maria* durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional.

Baixo retorno de ácidos nucleicos

- a) As partículas magnéticas não foram completamente suspensas
- Antes de iniciar o procedimento, assegure-se de que as partículas magnéticas estão completamente ressuspensas. Agitar no vórtex durante, pelo menos, 3 minutos antes de usar.
- b) As amostras congeladas não foram devidamente misturadas após o descongelamento
- Descongelar as amostras congeladas com agitação ligeira para assegurar a correta homogeneização.
- c) ARN transportador (CARRIER) não adicionado
- Reconstituir o ARN transportador (CARRIER) em tampão AVE (AVE) e misturar com um volume adequado de tampão AVE (AVE), tal como descrito na respetiva folha de aplicação em www.qiagen.com/products/artushcvtgpcrkitce.aspx. Repetir o procedimento de purificação com novas amostras.

*Assegurar que os instrumentos foram objeto de verificação, manutenção e calibração regulares, de acordo com as recomendações do fabricante.

Comentários e sugestões

- d) Ácidos nucleicos degradados
As amostras foram armazenadas incorretamente ou sujeitas a demasiados ciclos de congelamento/descongelamento. Repetir o procedimento de purificação com novas amostras.
- e) Lise incompleta da amostra
Antes de usar, verifique se o tampão QSL2 e o tampão QSB1 não contêm precipitados. Se necessário, remover as cavidades que contêm os tampões QSL1 e QSB1 do cartucho de reagente (RC) e incubar durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional para dissolver o precipitado. Se o cartucho de reagente (RC) já estiver perfurado, assegurar que as cavidades são novamente fechadas com tiras vedantes reutilizáveis e proceder à incubação do cartucho de reagente completo (RC), durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional em banho-maria.*
- f) Entupimento da ponta da pipeta devido a material insolúvel
O material insolúvel não foi removido da amostra antes de iniciar o procedimento de purificação no QIA Symphony. Para remover o material insolúvel para aplicações virais, centrifugar a amostra a 3000 x g durante 1 minuto e transferir o sobrenadante para um novo tubo de amostra.

*Assegurar que os instrumentos foram objeto de verificação, manutenção e calibração regulares, de acordo com as recomendações do fabricante.

O QIAasymphony AS deteta Master insuficiente

Não foi transferida a totalidade do Master para o tubo

Juntar todos os tubos de HCV RG Master A num único kit num tubo antes de usar. Juntar todos os tubos de HCV RG Master B num único kit num tubo antes de usar. Os reagentes viscosos podem ser difíceis de manusear com pipetas manuais. Assegurar que a totalidade do volume do Master é transferida para o tubo.

Para reagentes viscosos, recomendamos a aspiração de um volume adicional de 5% quando são utilizadas pipetas manuais (por exemplo, ajustar a pipeta para 840 µl para um volume de 800 µl).

Em alternativa, depois de distribuir lentamente o líquido e realizar a deflação na parede do tubo alvo, retirar a ponta do líquido, libertar o êmbolo da pipeta e aguardar mais 10 segundos. Sairá líquido residual da ponta e poderá ser eliminado, premindo o êmbolo da pipeta uma segunda vez. A utilização de pontas com grau de PCR designadas de "baixa retenção" podem aperfeiçoar a recuperação de líquido.

Ausência de sinal com controlos positivos (Hep. C Virus RG QS 1–4) no canal de fluorescência Cycling Green

a) O canal de fluorescência selecionado para análise dos dados de PCR não cumpre o protocolo

Para análise de dados, selecionar o canal de fluorescência Cycling Green para a PCR de VHC analítica e o canal de fluorescência Cycling Orange para a PCR do controlo interno.

b) Programação incorreta do perfil de temperatura do instrumento Rotor-Gene

Comparar o perfil de temperatura com o protocolo. Consultar a folha de aplicação e a folha de protocolo relevantes em www.qiagen.com/products/artushcvrgpckitce.aspx.

Comentários e sugestões

- c) Configuração incorreta da PCR Assegurar que a configuração do ensaio foi efetuada corretamente e que se utilizou o conjunto de parâmetros correto. Repetir a PCR, se necessário. Consultar a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushcvrgpcrkitce.aspx.
- d) As condições de armazenamento para um ou mais componentes do kit não cumprem as instruções fornecidas em "Armazenamento e manuseamento de reagentes" (página 8) Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (ver etiqueta do kit) dos reagentes e usar um novo kit, caso seja necessário.
- e) O prazo de validade do kit *artus* HCV QS-RGQ expirou Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (ver etiqueta do kit) dos reagentes e usar um novo kit, caso seja necessário.

Sinal fraco ou ausente do controlo interno de uma amostra de plasma negativa sujeita a purificação usando o kit QIA Symphony DSP Virus/Pathogen no canal de fluorescência Cycling Orange e ausência simultânea de sinal no canal Cycling Green

- a) As condições da PCR não cumprem os requisitos do protocolo Verificar as condições da PCR (ver acima) e repetir a PCR com as definições corrigidas, caso seja necessário.
- b) A PCR foi inibida Assegurar que se utiliza o método de isolamento validado (consultar "Protocolo: Isolamento do ARN e configuração do ensaio no QIA Symphony SP/AS", na página 12) e seguir rigorosamente as instruções.

Comentários e sugestões

- c) ARN foi perdido durante a extração
- Um sinal ausente do controlo interno pode indicar perda de ARN durante a extração. Assegurar que se utiliza o método de isolamento validado (consultar “Protocolo: Isolamento do ARN e configuração do ensaio no QIA Symphony SP/AS”, na página 12) e seguir rigorosamente as instruções.
- Consultar também “Baixo retorno de ácidos nucleicos” acima.
- d) As condições de armazenamento para um ou mais componentes do kit não cumprem as instruções fornecidas em “Armazenamento e manuseamento de reagentes” (página 8)
- Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (ver etiqueta do kit) dos reagentes e usar um novo kit, caso seja necessário.
- e) O prazo de validade do kit *artus* HCV QS-RGQ expirou
- Verificar as condições de armazenamento e a data de validade (ver etiqueta do kit) dos reagentes e usar um novo kit, caso seja necessário.

Sinais com controlos negativos no canal de fluorescência Cycling Green da PCR analítica

- a) Contaminação ocorrida durante a preparação da PCR
- Repetir a PCR com novos reagentes nos replicados.
- Se possível, fechar os tubos de PCR diretamente após adicionar a amostra a ser testada.
- Assegurar que o espaço de trabalho e os instrumentos são descontaminados regularmente.
- b) Contaminação ocorrida durante a extração
- Repetir a extração e a PCR da amostra a ser testada usando novos reagentes.
- Assegurar que o espaço de trabalho e os instrumentos são descontaminados regularmente.

Controlo da qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão da Qualidade Total da QIAGEN certificado pela norma ISO, todos os lotes do kit *artus* HCV QS-RGQ são testados face a especificações predeterminadas, para garantir uma qualidade constante do produto.

Limitações

Todos os reagentes podem ser exclusivamente utilizados em diagnóstico in vitro.

O produto deve apenas ser utilizado por pessoal com formação específica em procedimentos de diagnóstico in vitro e devidamente instruído para o efeito.

Para resultados de PCR óptimos, é necessário que as instruções do manual do utilizador sejam rigorosamente observadas.

Atenção aos prazos de validade impressos na caixa e nos rótulos de todos os componentes. Não utilizar componentes cujo prazo de validade tenha expirado.

Embora rara, a ocorrência de mutações nas regiões altamente conservadas do genoma viral cobertas pelos iniciadores (primers) e/ou sonda do kit pode resultar em sub-quantificação ou falha em detetar a presença do vírus. A validade e o desempenho do ensaio são revistos regularmente.

Características de desempenho

Consultar www.qiagen.com/products/artushcvrgpcrkitce.asp para verificar as características de desempenho do kit *artus* HCV QS-RGQ.

Referências

1. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., eds. (2012) *The Flying Publisher Short Guide to Hepatitis C*. 2012 ed. No location: Flying Publisher.
2. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., and Wedemeyer, H., eds. (2012) *Hepatitis: A Clinical Textbook*. 2012 ed. No location: Flying Publisher.
3. Munir, S. et al. (2010) Hepatitis C treatment: current and future perspectives. *Viol. J.* **7**, 296.
4. Harrington, P.R., Zeng, W., and Naeger, L.K. (2012) Clinical relevance of detectable but not quantifiable hepatitis C virus RNA during boceprevir or telaprevir treatment. *Hepatology* **55**, 1048.

Símbolos



<N>

Contém reagentes suficientes para <N> reações



Prazo de validade



Dispositivo médico para diagnóstico in vitro



Número de catálogo



Número do lote



Número do material



Componentes



Contém



Número



Número do item de comércio mundial



Limites de temperatura



Fabricante



Consultar as instruções de utilização



Atenção

Informações de contacto

Para obter assistência técnica e mais informações, consultar o nosso Centro de Suporte Técnico em www.qiagen.com/Support, ligar para 00800-22-44-6000 ou contactar um dos Departamentos da Assistência Técnica ou distribuidores locais da QIAGEN (consultar o verso do manual ou visitar www.qiagen.com).

Informações para encomenda

Produto	Índice	N.º de cat.
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (24)	Para 24 reações: 2 masters, 4 padrões de quantificação, controlo interno, água (grau PCR)	4518363
<i>artus</i> HCV QS-RGQ Kit (72)	Para 72 reações: 2 masters, 4 padrões de quantificação, controlo interno, água (grau PCR)	4518366
Sistema QIASymphony RGQ		
QIASymphony RGQ, System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, acessórios e consumíveis necessários, instalação e formação	9001850

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncia de responsabilidades específicas do produto, consultar o manual do utilizador ou o manual de instruções do kit QIAGEN respetivo. 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.

A aquisição deste produto permite ao comprador o seu uso para efetuar serviços de diagnóstico em processos de diagnóstico humano in vitro. Não é aqui concedida patente geral ou outra licença de qualquer tipo além deste direito de utilização específico a partir da compra.

Marcas registadas: QIAGEN®, QIA Symphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

O kit *artus* HCV QSRGQ é um kit de diagnóstico com a marca CE, de acordo com a Diretiva Europeia 98/79/CE relativa ao Diagnóstico In Vitro. Não disponível em todos os países.

Acordo de licença limitada para o kit *artus* HCV QS-RGQ

A utilização deste produto significa o acordo por parte de qualquer comprador ou utilizador do produto segundo os seguintes termos:

1. O produto só pode ser usado em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e este manual e apenas com os componentes contidos no kit. A QIAGEN não concede qualquer licença ao abrigo da sua propriedade intelectual para usar ou incorporar os componentes incluídos neste kit com qualquer componente não incluído neste kit, exceto conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, este manual e quaisquer protocolos adicionais disponíveis em www.qiagen.com. Alguns destes protocolos adicionais foram fornecidos por utilizadores QIAGEN para utilizadores QIAGEN. Estes protocolos não foram devidamente testados nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece qualquer garantia de que os mesmos não infrinjam direitos de terceiros.
2. À exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este kit e/ou a sua utilização ou utilizações não infrinjam os direitos de terceiros.
3. Este kit e os seus componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, renovados ou objeto de revenda.
4. A QIAGEN recusa especificamente qualquer outra licença, expressa ou implícita, à exceção das expressamente declaradas.
5. O comprador e utilizador do kit concorda em não tomar nem permitir que qualquer outro tome medidas que possam conduzir ou facilitar qualquer dos atos acima proibidos. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições deste Acordo de Licença Limitada em qualquer Tribunal e irá recuperar todos os seus custos legais e de investigação, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir este Acordo de Licença Limitada ou qualquer dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao kit e/ou seus componentes.

Para obter os termos de licença atualizados, ver www.qiagen.com.

© 2010-2014 QIAGEN, todos os direitos reservados.

www.qiagen.com

Australia ▪ techservice-au@qiagen.com

Austria ▪ techservice-at@qiagen.com

Belgium ▪ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ▪ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ▪ techservice-ca@qiagen.com

China ▪ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ▪ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ▪ techservice-nordic@qiagen.com

France ▪ techservice-fr@qiagen.com

Germany ▪ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ▪ techservice-hk@qiagen.com

India ▪ techservice-india@qiagen.com

Ireland ▪ techservice-uk@qiagen.com

Italy ▪ techservice-it@qiagen.com

Japan ▪ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ▪ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ▪ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ▪ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ▪ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ▪ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ▪ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ▪ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ▪ techservice-ch@qiagen.com

UK ▪ techservice-uk@qiagen.com

USA ▪ techservice-us@qiagen.com

