

Instruções de uso (Ficha de protocolo) do QIAsymphony[®] DSP DNA Mini Kit

Protocolo VirusBlood200_V5_DSP

Versão 2

IVD

Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com o QIAsymphony DSP DNA Mini Kit (192)

CE

REF

937236



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 QIAAsymphony DSP DNA Kit destina-se ao uso diagnóstico in vitro.

Este protocolo destina-se à purificação de DNA viral de sangue total humano fresco usando o QIAAsymphony SP e o QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit. O DNA viral dos vírus liberados, bem como dos vírus associados às células, é copurificado com DNA genômico das células sanguíneas.

Kit	QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit (Ref. 937236)
Material de amostra	Sangue total humano (EDTA ou citrato ou anticoagulante)
Nome do protocolo	VirusBlood200_V5_DSP
Conjunto de controle de ensaio padrão	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Editável	Volume de eluição: 60, 85, 110 e 165 µl
Versão de software necessária	Versão 4.0 ou superior
Configuração de software necessária para uso em diagnóstico in vitro	Perfil padrão 1

Materiais necessários, mas não fornecidos

Para a preparação de mistura de controle interno e Buffer ATE

- 2 ml sample tube (Sarstedt® n° de ref. 72.693, non-skirted)
- 2 ml sample tube (Sarstedt n° de ref. 72.694, skirted)
- BD™ 14 ml Falcon polystyrene round-bottom tube (n° de ref. 352051)

Gaveta "Sample" (Amostra)

Tipo de amostra	Sangue total humano (EDTA, citrato ou heparina anticoagulante)
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 .
Tubos de amostra primários	Para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com .
Tubos de amostra secundários	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 controle interno e Buffer ATE obrigatória; o uso do controle interno é opcional

Gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagentes (Reagent cartridge, RC)
Posição B1	n/a
Suporte de rack para ponteiras, 1-17	Ponteiras com filtro descartáveis, 200 ou 1500 µl
Suporte de caixa unitária, 1-4	Caixas unitárias com cartuchos de preparo de amostras ou 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 vazio

Gaveta "Eluate" (Eluato)

Rack de eluição (recomendamos o uso da 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†	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl†	98	188	278	368
Sample prep cartridges§	21	42	63	84
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Usar 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 RC.

§ 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 referida 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
165	195

* O volume de eluição selecionado na tela sensível ao toque. Esse é o volume mínimo acessível de eluído no tubo de eluição final.

† O volume inicial da solução de eluição é necessário para garantir que o volume real de eluato seja igual ao volume selecionado.

Preparação de mistura de controle interno e Buffer ATE

O uso do protocolo VirusBlood200_V5_DSP em combinação com sistemas de amplificação que usam um controle interno pode exigir a introdução desses controles no procedimento de purificação para monitorar a eficiência da preparação da amostra e do ensaio posterior.

A quantidade de controle interno que é adicionada depende do sistema de ensaio e do volume de eluição escolhido dentro do protocolo VirusBlood200_V5_DSP. O cálculo e a validação devem ser realizados pelo usuário. Consulte as instruções do fabricante para o ensaio posterior para determinar a concentração ideal do controle interno.

Os controles internos devem ser adicionados com a mistura de controle interno e Buffer ATE em um volume total de 60 µl. Uma mistura de controles internos pode ser usada para analisar diferentes parâmetros de um único eluato. A compatibilidade de diferentes controles internos deve ser validada pelo usuário. É recomendável preparar misturas frescas para cada ensaio logo antes de sua utilização. Se nenhum controle interno for usado, o uso do Buffer ATE ainda será necessário.

Volume de eluição selecionado (µl)	Volume de eluição inicial (µl)	Controle interno do volume (µl)*	Buffer ATE (ATE) do volume (µl)	Volume final por amostra (µl)
60	90	9	51	60
85	115	11,5	48,5	60
110	140	14	46	60
165	195	19,5	40,5	60

* 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 para a mistura de IC; para obter mais detalhes, consulte a lista de materiais de laboratório disponível em www.qiagen.com.

Nota: Os valores exibidos na tabela são destinados à preparação de mistura de controle interno e Buffer ATE para um ensaio posterior que requer 0,1 µl de controle interno/µl de eluato.

Os tubos que contêm misturas de controle interno e Buffer ATE são colocados em um porta-tubos. O porta-tubos que contêm mistura(s) de controle interno e Buffer ATE deve ser colocado na fenda A da gaveta "Sample" (Amostra).

Dependendo do número de amostras a serem processadas, recomendamos o uso de tubos de 2 ml (Sarstedt, n° de ref. 72.693 e 72.694) ou tubos de fundo redondo de polistereno de 14 ml, 17 x 100 mm (BD, n° de ref. 352051) para diluir o controle interno, conforme descrito na tabela abaixo. É possível dividir o volume em 2 ou mais tubos.

Calculando o volume da mistura de controle interno

Tipo de tubo*	Nome na tela sensível ao toque do QIASymphony	Cálculo do volume da mistura de controle interno por tubo
2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, n° de ref. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt, n° de ref. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\dagger$
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD, n° de ref. 352051)	BD#352051 FalconPP 17 x 100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\ddagger$

* Para obter o(s) introdutore(s) necessário(s), consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com.

† Use esta equação para calcular o volume necessário de mistura de controle interno (n = número de amostras; $60 \mu\text{l}$ = volume da mistura de controle interno e Buffer ATE, $360 \mu\text{l}$ = volume vazio necessário por tubo). Por exemplo, para 12 amostras ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. Não encha o tubo com mais de 1,92 ml (ou seja, no máximo 26 amostras por tubo). Se mais de 26 amostras forem processadas, use tubos adicionais, garantindo que o volume vazio seja adicionado por tubo.

‡ Use esta equação para calcular o volume necessário da mistura de controle interno e Buffer ATE (n = número de amostras; $60 \mu\text{l}$ = volume da mistura de controle interno e Buffer ATE; $600 \mu\text{l}$ = volume vazio necessário por tubo). Por exemplo, para 96 amostras ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

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 fichas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

Para obter 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, quanto ao dispositivo de coleta de amostras selecionado, devem ser seguidas durante o preparo, armazenamento, transporte e manuseio geral de amostras.

Sangue humano total

Para o isolamento do DNA viral, recomendamos o uso de amostras de sangue total tratadas com EDTA ou citrato. Para o armazenamento a curto prazo de até 7 dias, recomendamos o armazenamento em 2–8 °C. Para o armazenamento a longo prazo, recomendamos congelar as alíquotas até 3 meses em -20 °C ou até 1 ano em -80 °C.

Nota: A estabilidade de amostra depende muito de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para o QIASymphony DSP DNA Mini Kit 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.

Se usar amostras de sangue fresco em tubos primários, misture bem as amostras de sangue (por ex., invertendo os tubos várias vezes) antes de colocá-los no QIASymphony SP. Amostras congeladas devem ser descongeladas rapidamente em banho-maria a 37 °C com agitação moderada, para garantir uma mistura completa e, em seguida, equilibradas em temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar o procedimento. Para garantir uma transferência de amostra confiável, evite gerar espuma nos tubos de amostra. Tente evitar coágulos sanguíneos nas amostras e, se necessário, transfira a amostra sem coágulos para um novo tubo.

Armazenamento de eluatos

Recomenda-se remover a placa de eluato da gaveta "Eluate" (Eluato) imediatamente após o término da execução. As placas de eluição podem ser deixadas no QIASymphony SP após a conclusão da execução de um dia para outro (máximo de 12 horas incluindo o tempo de execução; condições ambientais recomendadas: 18–26 °C e umidade relativa de 20–75%). Dependendo da temperatura e umidade, o eluato pode sofrer condensação ou evaporação.

Para o armazenamento a curto prazo de até 7 dias, recomendamos o armazenamento de ácidos nucleicos purificados a 2–8 °C. Para o armazenamento a longo prazo, recomendamos o armazenamento a -20 °C ou -80 °C.

Nota: A estabilidade do eluato depende muito de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para o QIASymphony DSP DNA Mini Kit 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.

Substâncias interferentes

As amostras de sangue com altas concentrações de triglicérides (>30 g/l) podem levar a uma redução de rendimento de gDNA.

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 QIASymphony DSP DNA Mini 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.

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 IVD• Adição da seção Materiais necessários, mas não fornecidos• Adição da seção Substâncias interferentes• Adição da seção Armazenamento de eluatos• Adição da seção Símbolos• Atualização da seção Preparo de material de amostra

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); 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-3029-S06-001 © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.