

Fevereiro 2018

Folha de aplicação

QIASymphony[®] RGQ

artus[®] HSV-1/2 QS-RGQ Kit
(tipo de amostra: LCR)

R2

IVD

CE

REF

4500363

artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit, versão 1



Verificar a disponibilidade de novas revisões de rotulagem eletrónica em www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkitce.aspx antes da realização do teste.

Informações gerais

Kit	<i>artus</i> HSV-1/2 QS-RGQ Kit, Versão 1 (n.º cat. 4500363)
Material de amostras validado	LCR
Purificação avançada	QIAasymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (n.º cat. 937036)
Volume da amostra (incluindo volume excedente)	350 µl
Conjunto de parâmetros de ensaio	<i>artus</i> _HSV_CSF200_V5
Conjunto de controlo do ensaio predefinido	Cellfree200_V7_DSP_ <i>artus</i> _HSV
Volume de eluição	60 µl
Versão de software necessária	Versão 4.0 ou posterior
Volume de mistura padrão (Master)	30 µl
Volume modelo	20 µl
Número de reações	4-24
Tempo de corrida no módulo AS	Para 4 reações: aproximadamente 9 minutos Para 72 reações: aproximadamente 35 minutos

Materiais necessários, mas não fornecidos

Kit de purificação

- QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit (n.º cat. 937036)

Adaptadores para o QIAAsymphony SP

- Elution Microtube Rack QS (Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym, n.º cat. 9020730)
- Estrutura de transferência
- Tube Insert 3B (Insert, 2,0ml v2, samplecarr. (24), Qsym, n.º cat. 9242083)

Consumíveis para o QIAAsymphony SP

- Sample Prep Cartridges, 8-well (n.º cat. 997002)
- 8-Rod Covers (n.º cat. 997004)
- Filter-Tips, 1500 µl (n.º cat. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (n.º cat. 990332)
- Elution Microtubes CL (n.º cat. 19588)
- Tip disposal bags (n.º cat. 9013395)
- Micro tubes 2.0 ml Type H ou Micro tubes 2.0 ml Type I, (Sarstedt®, n.º cat. 72.693 e 72.694, www.sarstedt.com) para usar com amostras e controlos internos

Adaptadores e suportes de reagentes para o QIAAsymphony AS

- Reagent holder 1 QS (Cooling Adapter, Reagent Holder 1, Qsym, n.º cat. 9018090)
- RG Strip Tubes 72 QS (Cooling Adapter, RG Strip Tubes 72, Qsym, n.º cat. 9018092)

Consumíveis para o QIAAsymphony AS

- Strip Tubes and Caps, 0,1 ml (n.º cat. 981103)
- Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (n.º cat. 997102) ou Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, n.º cat. 72.694.005)
- Em alternativa: Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (n.º cat. 997104) ou Tubes with flat base from PP (Sarstedt, n.º cat. 60.558.001)
- Filter-Tips, 1500 µl (n.º cat. 997024)
- Filter-Tips, 200 µl (n.º cat. 990332)
- Filter-Tips, 50 µl (n.º cat. 997120)
- Tip disposal bags (n.º cat. 9013395)

Manuseamento e armazenamento de amostras

Colheita da amostra	LCR
Armazenamento de amostras	As amostras devem ser armazenadas a 2–8 °C ou a –20 °C
Transporte de amostras	Transporte à prova de estilhaços Envio no prazo de 24 horas Envio por correio de acordo com as instruções legais para o transporte de material patogénico*
Preparação de amostras	Prevenir a formação de espuma nas ou sobre as amostras As amostras devem ser estabilizadas à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar a corrida.

*International Air Transport Association (IATA, Associação Internacional de Transporte Aéreo).
Dangerous Goods Regulations (Regulamentos para Mercadorias Perigosas).

Procedimento

Preparação do ARN transportador e adição do controlo interno para as amostras

A utilização do QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit em conjunto com o *artus* HSV-1/2 QS-RGQ Kit requer a introdução de um controlo interno (HSV-1/2 RG IC) no procedimento de purificação para monitorizar a eficiência da preparação da amostra e do ensaio a jusante.

Os controlos internos devem ser adicionados com a mistura de ARN transportador (CARRIER)-tampão AVE (AVE) e o volume total da mistura de controlo interno-ARN transportador (CARRIER)-tampão AVE (AVE) mantém-se em 120 µl.

A tabela representa a adição do controlo interno ao isolamento numa proporção de 0,1 µl por 1 µl de volume de eluição. Recomendamos a preparação de misturas novas para cada corrida imediatamente antes de usar.

Como alternativa, pode ser utilizada a ferramenta "IC Calculator" (Calculadora IC) na QIASymphony Management Console.

Componente	Volume (µl) (tubos Sarstedt)*	Volume (µl) (tubos Corning)†
ARN transportador de stock (CARRIER)	2,5	2,5
Controlo interno‡	9	9
Tampão AVE	108,5	108,5
Volume final por amostra (excluindo volume morto)	120	120
Volume total para n amostras	$(n \times 120) + 360^{\S}$	$(n \times 120) + 600^{\P}$

* Micro tubes 2.0 ml Type H e Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt, n.º cat. 72.693 e 72.694.

† Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (Corning® Inc., n.º cat. 352051; a Becton Dickinson era o fornecedor anterior deste tubo e a Corning Inc. é agora o novo fornecedor).

‡ O cálculo da quantidade de controlo interno baseia-se nos volumes de eluição iniciais (90 µl). O volume morto adicional depende do tipo de tubo de amostra utilizado.

§ É necessária uma mistura de controlo interno correspondente a 3 amostras adicionais (ou seja, 360 µl). Não encher mais de 1,92 ml de volume total (correspondente a um máximo de 13 amostras. Estes volumes são específicos para Micro tubes 2.0 ml Type H e Micro tubes 2.0 ml Type I, Sarstedt, (n.º cat. 72.693 e 72.694).

¶ É necessária uma mistura de controlo interno correspondente a 5 amostras adicionais (ou seja, 600 µl). Não encher mais de 13,92 ml de volume total (correspondente a um máximo de 111 amostras. Estes volumes são específicos para Tubes 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom, Corning Inc., n.º cat. 352051; a Becton Dickinson era o fornecedor anterior deste tubo e a Corning Inc. é agora o novo fornecedor).

Configuração do QIAasymphony 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	Esvaziar e instalar o frasco de resíduos líquidos

Bandeja "Eluate" (Eluato)

Suporte de eluição	Elution Microtubes CL em Elution Microtube Rack QS e estrutura de transferência Usar ranhura 1, posição de arrefecimento
Volume de eluição*	Volume de eluição pré-selecionado: 60 µl Volume de eluição inicial: 90 µl

* O volume de eluição é pré-selecionado para o protocolo. Este é o volume acessível mínimo de eluato no tubo de eluição final. O volume inicial da solução de eluição é necessário para assegurar que o volume real de eluato é igual ao volume pré-selecionado.

Bandeja "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

RC Posição 1 e 2	Carregar 1 cartucho de reagente (reagent cartridge, RC) para até 96 amostras
Posições do suporte de pontas 1-18	Carregar suportes de pontas com filtro descartáveis suficientes, 200 µl e 1500 µl (consultar "Material plástico necessário para 1-4 lotes de amostras", página 7)
Posições da caixa de unidades 1-4	Carregar caixas de unidades contendo cartuchos de preparação de amostras e 8-Rod Covers (consultar "Material plástico necessário para 1-4 lotes de amostras", página 7)

Bandeja "Sample" (Amostra)

Tipo de amostra	LCR
Volume da amostra (incluindo volume excedente)	350 µl
Tubos de amostras	Micro tubes 2.0 ml Type H ou Micro tubes 2.0 ml Type I (Sarstedt, n.º cat. 72.693 e 72.694)
Introdutor	Tube Insert 3B (n.º cat. 9242083)

Material plástico necessário para 1-4 lotes de amostras

Componente	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*
Pontas com filtro descartáveis, 200 µl ^{††}	30	54	78	102
Pontas com filtro descartáveis, 1500 µl ^{††}	101	182	271	354
Sample prep cartridges [§]	21	42	63	84
8-Rod Covers [¶]	3	6	9	12

* Utilizar mais do que um tubo de controlo interno por lote e efetuar mais do que uma inventariação requer pontas com filtro descartáveis adicionais.

† Estão disponíveis suportes de 32 pontas/pontas com filtros.

†† O número de pontas com filtro necessárias inclui pontas com filtro para 1 inventariação por cartucho de reagente.

§ Estão disponíveis 28 cartuchos de preparação de amostras/caixa de unidades.

¶ Estão disponíveis doze mangas de 8 barras/caixa de unidades.

Configuração do QIASymphony AS

Consumíveis

Durante a configuração, as posições apropriadas para cada consumível no módulo QIASymphony AS são indicadas no ecrã tátil do instrumento.

Consumível	Nome no ecrã tátil	Para uso com adaptador/ suporte de reagente
Strip Tubes and Caps, 0.1 ml (250)	QIA#981103 *StripTubes 0.1	RG Strip Tubes 72 QS
Tubes, conical, 2 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997102 *T2.0 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS
Tubes, conical, 5 ml, Qsym AS (500) ^{†‡}	QIA#997104 *T5.0 ScrewSkirt [§]	Reagent holder 1 QS

* Indica o material de laboratório que pode ser arrefecido com um adaptador de arrefecimento com código de barras.

[†] Para componentes da mistura padrão, mistura padrão preparada pelo sistema, padrões de ensaio e controlos de ensaio.

[‡] Alternativamente, podem ser usados os tubos Sarstedt descritos em "Materiais necessários, mas não fornecidos", pág. 3.

[§] O sufixo "(m)" no ecrã tátil indica que os cálculos de nível do líquido para o respetivo tubo foram otimizados para os reagentes formando um menisco côncavo.

Adaptadores e suportes de reagentes

Suporte/Suporte de reagentes	Nome	Número necessário [¶]
Suportes de reagentes	Reagent holder 1 Q	1
Suportes de amostras	RG Strip Tubes 72 QS	1

[¶] Calculado para uma corrida de ensaio com 72 reações.

Pontas com filtro

Carregar a bandeja "Eluate and Reagents" (Eluato e reagentes) com suportes de pontas a começar pelas ranhuras de pontas 1, 2 e 3 e carregar depois a bandeja "Assays" (Ensaio) com suportes de pontas nas ranhuras de pontas 7, 8 e 9.

Consumível	Nome no ecrã tátil	Número mínimo para 24 reações	Número mínimo para 72 reações
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	1500 µl	4	6
Filter-Tips, 200 µl (1024)	200 µl	9	8
Filter-Tips, 50 µl (1024)	50 µl	25	73
Tip Disposal Bags	–	1	1

PCR no Rotor-Gene Q*

Ver a folha de protocolo específica do software *Settings to run artus QS-RGQ Kits* (Definições de corrida dos artus QS-RGQ Kits) em www.qiagen.com/products/artushsv-12pcrkite.aspx, para mais informações sobre o protocolo.

Definições específicas do artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit

Com o software Rotor-Gene® 2.1 ou superior, as definições específicas são mostradas abaixo.

"Reaction Volume (µl)" (Volume de reação (µl))	50
"Hold" (Em espera)	Manter a temperatura: 95 graus Tempo de espera: 10 minutos
"Cycling " (Ciclos)	45 vezes 95 graus durante 15 segundos 65 graus durante 30 segundos (aquisição no verde, laranja, amarelo e ativação da função "Touchdown" (diminuição de um grau a cada ciclo) para 10 ciclos) 72 graus durante 20 segundos
"Auto-Gain Optimisation Setup " (Configuração da otimização de ganho automático)	65 graus (Amostras: Verde, Laranja: IC: Amarelo)

Interpretação de resultados

Esta secção descreve a interpretação de resultados no Rotor-Gene Q. Rever também a informação de estado da amostra dos ficheiros de resultados do QIASymphony SP/AS para análise do fluxo de trabalho desde a amostra ao resultado. Apenas devem ser utilizadas amostras com um estado válido.

O *artus* HSV-1/2 QS-RGQ Kit pode ser executado no Rotor-Gene Q com análise manual com o software Rotor-Gene Q 2.1 ou superior. As secções seguintes descrevem a interpretação dos resultados com o software Rotor-Gene Q 2.1 ou superior.

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

Deteção de sinal e conclusões

Sinal no canal Cycling Green	Sinal no canal Cycling Orange	Sinal no canal Cycling Yellow	Resultado	Interpretação
Sim	Não	Sim*	Positivo	A amostra contém ADN de HSV-1. Não é detetável ADN de HSV-2. [†]
Não	Sim	Sim*	Positivo	A amostra contém ADN de HSV-2. Não é detetável ADN de HSV-1. [†]
Sim	Sim	Sim*	Positivo	A amostra contém ADN de HSV-1 e HSV-2.
Não	Não	Sim	Negativo	Não é detetável ADN de HSV-1/2. [†]
Não	Não	Não	Inconclusivo	Não pode inferir-se qualquer resultado. [‡]

* O sinal é dispensável, dado que as concentrações iniciais de ADN de HSV-1 e/ou HSV-2 podem levar a um sinal de fluorescência reduzido ou ausente no canal Cycling Yellow (competição).

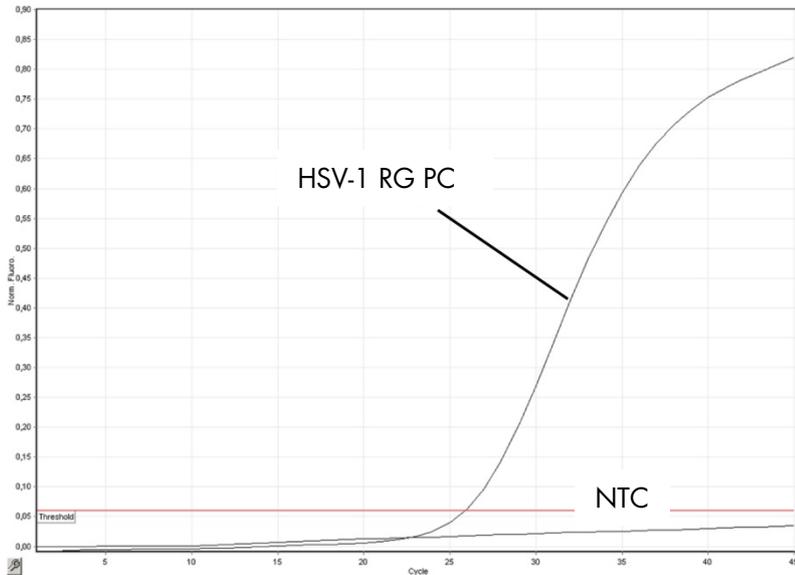
† Se o valor C_T do controlo interno de uma amostra negativa for superior em mais de 3 ciclos ao valor C_T do controlo interno do controlo sem modelo na corrida ($C_{TIC\ Amostra} - C_{TIC\ NTC} > 3$), a amostra deve ser tratada como inválida. Não pode inferir-se qualquer resultado.

‡ Podem ser encontradas informações sobre as fontes de erro e respetiva solução no "Troubleshooting guide" (Guia para a resolução de problemas) do manual do *artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit* (*artus HSV-1/2 QS-RGQ Kit Handbook*).

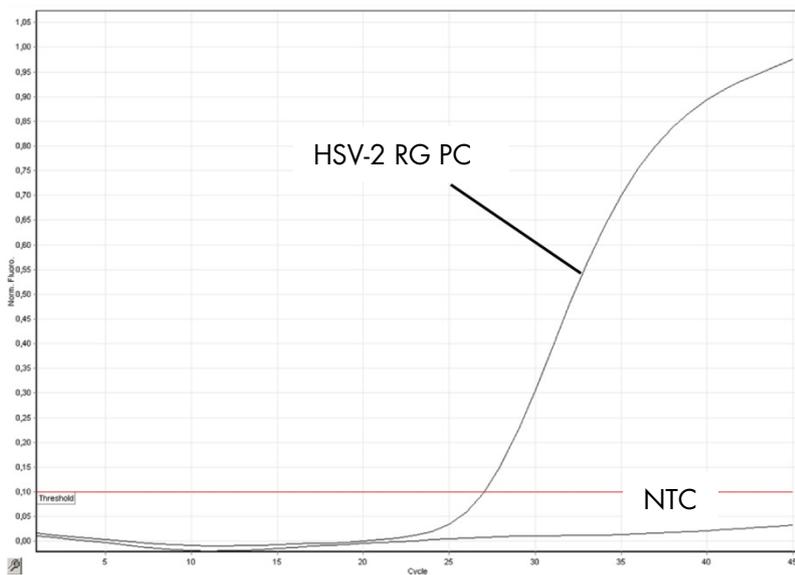
Configuração do limiar para a análise PCR

As definições de limiar ideal para uma determinada combinação do instrumento Rotor-Gene Q e do *artus QS-RGQ Kit* devem ser configuradas empiricamente, testando cada combinação individual, uma vez que se trata de um valor relativo que depende do processo de diagnóstico geral. O limiar pode ser definido num valor preliminar de 0,04 para a análise do primeiro procedimento de ensaio de PCR, mas este valor deve ser redefinido numa análise comparativa das corridas seguintes do fluxo de trabalho. O limiar deve ser definido manualmente mesmo acima do sinal de fundo dos controlos negativos e amostras negativas. O valor limiar médio calculado a partir destas experiências irá certamente funcionar para a maioria dos procedimentos de ensaio futuros, mas o utilizador deve, apesar disso, rever o valor limiar gerado a intervalos regulares. O valor limiar situar-se-á, normalmente, no intervalo de 0,03–0,05 e deve ser arredondado para não mais do que três casas decimais.

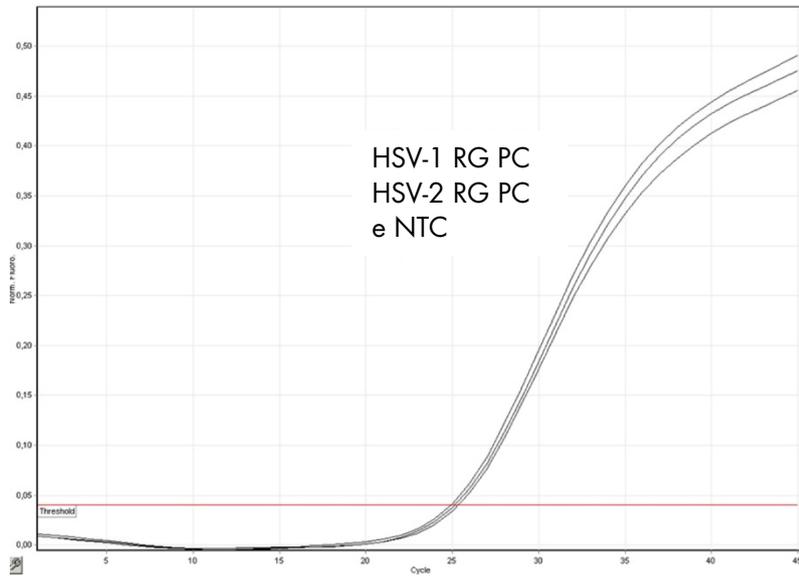
Exemplos de reações PCR positivas e negativas



Deteção do controlo positivo para HSV-1 (HSV-1 RG PC) no canal de fluorescência Cycling Green.
NTC: nenhum controlo de modelo (controlo negativo).



Deteção do controlo positivo para HSV-2 (HSV-2 RG PC) no canal de fluorescência Cycling Orange.
NTC: nenhum controlo de modelo (controlo negativo).



Deteção do controlo interno (internal control, IC) no canal de fluorescência Cycling Yellow com amplificação simultânea dos controlos positivos (HSV-1 RG PC e HSV-2 RG PC). NTC: Controlo sem modelo.

Histórico de revisões do documento

R2, fevereiro 2018 Foi retirada a nota de rodapé que dizia respeito à configuração de 216 ensaios. Alteração para novas versões dos protocolos QIASymphony. Foram atualizados os materiais necessários para configuração de um máximo de 72 reações. Foram adicionadas informações acerca da utilização da ferramenta QMC "IC Calculator" (Calculadora IC). Foi atualizado o nome do material de laboratório Corning (anteriormente Becton Dickinson). Foram adicionadas definições específicas de execução para o Rotor-Gene Q (utilização da função "Touchdown" (diminuição de um grau a cada ciclo), aquisições de dados). Foi retirada a referência ao Rotor-Gene AssayManager®.

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncias de responsabilidade específicas do produto, consultar os manuais 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 comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene®, Rotor-Gene AssayManager® (QIAGEN Group); Corning® (Corning Inc.); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Os nomes registados, as marcas comerciais, etc., utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados especificamente como tal, não devem ser considerados como não protegidos por lei.
02/2018 HB-0403-S01-002 © 2012–2018 QIAGEN, todos os direitos reservados.

