

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

Protocolo Cellfree500_V5_DSP

Versão 2



Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com QIAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit



REF

937055



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 Midi Kit |
| Material de amostra | Plasma, soro e CSF |
| Nome do protocolo | Cellfree500_V5_DSP |
| Conjunto de controles de ensaio padrão | ACS_Cellfree500_V5_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†‡ | 32 | 56 | 80 | 104 |
| Disposable filter-tips, 1500 µl†‡ | 109 | 198 | 297 | 386 |
| 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 | 5 | 9 | 106 | 120 |
| 85 | 5 | 11,5 | 103,5 | 120 |
| 110 | 5 | 14 | 101 | 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 QIAAsymphony | 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.

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 QIAAsymphony 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 QIASymphony 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 QIASymphony 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 por períodos curtos de até 24 horas, recomenda-se armazenar os ácidos nucleicos purificados a 2–8 °C. Para períodos de mais de 24 horas, recomenda-se 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-S08-001 © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.