

Manual do *artus*[®] HBV QS-RGQ Kit



24 (n.º de catálogo 4506363)



72 (n.º de catálogo 4506366)

Versão 1

IVD

Diagnóstico in vitro quantitativo

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



REF

4506363, 4506366



1060925PT



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA

R5

MAT

1060925PT



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 alcançar o sucesso, bem como resultados notáveis. Para obter mais informações, visitar www.qiagen.com.

Conteúdo

Utilização prevista	4
Resumo e explicação	4
Informação sobre o patogéneo	5
Materiais fornecidos	6
Conteúdo do kit	6
Materiais necessários, mas não fornecidos	7
Avisos e precauções	8
Precauções gerais	8
Armazenamento e manuseamento de reagentes	8
Manuseamento e armazenamento de amostras	9
Procedimento	10
Preparação dos instrumentos QIASymphony SP/AS para utilização	10
Purificação de ADN viral	10
Utilização de um controlo interno e ARN portador (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 ADN e configuração do ensaio no QIASymphony SP/AS	12
■ PCR no Rotor-Gene Q	17
Interpretação de resultados	18
Guia de resolução de problemas	18
Controlo de qualidade	24
Limitações	24
Características de desempenho	24
Referências	25
Símbolos	25
Informações de contacto	26
Informações para encomenda	27

Utilização prevista

O *artus* HBV QS-RGQ Kit é um teste de amplificação de ácidos nucleicos *in vitro*, para a quantificação de ADN do vírus da hepatite B (VHB) no plasma humano tratado com EDTA. Este kit de teste diagnóstico utiliza reacção em cadeia da polimerase (PCR) e está configurado para ser utilizado com os instrumentos QIASymphony SP/AS e Rotor-Gene Q. 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/artushbvpcrkitce.aspx.

A QIAGEN continua a desenvolver e validar mais aplicações para os *artus* QS-RGQ Kits, como, por exemplo, a utilização com tipos de amostras adicionais. A versão mais actual deste manual e das Folhas de Aplicação associadas encontram-se disponíveis online em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

O *artus* HBV QS-RGQ Kit 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 ADN de HBV em plasma humano tratado com EDTA. O *artus* HBV QS-RGQ Kit não foi concebido para utilização como teste de despistagem do HBV ou como um teste diagnóstico para confirmar a presença de infecção pelo HBV.



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/artushbvpcrkitce.aspx.

Dado que a QIAGEN monitoriza continuamente o desempenho do ensaio e valida novas afirmações, os utilizadores devem assegurar que trabalham com a revisão mais recente das instruções de utilização.



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

Todos os kits podem ser utilizados com os respectivos elementos de instrução desde que o número da versão do manual e outras informações sobre rotulagem correspondam ao número de versão do kit. O número da versão é visível no rótulo de cada caixa do kit. A QIAGEN garante a compatibilidade entre todos os lotes dos kits de teste com o mesmo número de versão.

Resumo e explicação

O *artus* HBV QS-RGQ Kit constitui um sistema pronto a usar para a detecção de ADN do HBV através da reacção em cadeia da polimerase (PCR) em

instrumentos Rotor-Gene Q, com preparação da amostra e configuração de ensaio utilizando os instrumentos QIA Symphony SP/AS. O HBV RG/TM Master contém reagentes e enzimas para a amplificação específica de uma região de 134 pb do genoma do HBV e para a detecção directa do amplicon específico no canal de fluorescência Cycling Green do Rotor-Gene Q.

Além disso, o *artus* HBV QS-RGQ Kit contém um segundo sistema de amplificação heterólogo para identificar uma possível inibição da PCR. Esta inibição é detectada como um controlo interno (IC) no canal de fluorescência Cycling Yellow do Rotor-Gene Q. O limite de detecção da PCR do HBV analítica não é reduzido. São fornecidos controlos positivos externos (HBV RG/TM QS 1–5) que permitem a determinação da quantidade de ADN viral. Para mais informações, consultar a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

Informação sobre o patógeno

O vírus da hepatite B (VHB) é principalmente transmitido por exposição a sangue ou produtos sanguíneos infectados. No entanto, são também possíveis infecções por transmissão sexual, oral e perinatal. Após um quadro inicial de mal-estar geral, incluindo perda de apetite, vômitos e distúrbios abdominais, cerca de 10–20% dos pacientes desenvolvem febre, exantema (erupção cutânea) e apresentam problemas ao nível articular e muscular. Um quadro de icterícia ocorre após 2–14 dias, podendo ser acompanhado de prurido. Hepatite fulminante ocorre em cerca de 1% de todos os pacientes infectados e é frequentemente fatal. 5–10% dos pacientes com hepatite B desenvolve inflamação hepática crónica que pode progredir para cirrose hepática ou carcinoma hepatocelular primário.

Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

artus HBV QS-RGQ Kit			(24)	(72)
N.º de catálogo			4506363	4506366
Número de reacções			24	72
Azul	HBV RG/TM Master		3 x 360 µl	7 x 360 µl
Vermelha	HBV RG/TM QS 1* (1 x 10 ⁵ IU/µl)	QS	200 µl	200 µl
Vermelha	HBV RG/TM QS 2* (1 x 10 ⁴ IU/µl)	QS	200 µl	200 µl
Vermelha	HBV RG/TM QS 3* (1 x 10 ³ IU/µl)	QS	200 µl	200 µl
Vermelha	HBV RG/TM QS 4* (1 x 10 ² IU/µl)	QS	200 µl	200 µl
Vermelha	HBV RG/TM QS 5* (1 x 10 ¹ IU/µl)	QS	200 µl	200 µl
Verde	HBV RG/TM IC [†]	IC	1.000 µl	2 x 1.000 µl
Branca	Water (PCR grade) (água (grau PCR))		1.000 µl	1.000 µl
	Handbook (Manual)		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 protecção. 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 6.800 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

- Instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ou Rotor-Gene Q 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/artushbvpcrkitce.aspx.

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

[†] Prevê-se que o Rotor-Gene AssayManager esteja disponível no final de 2012.

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 protecção. Para obter mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (SDS) adequadas. Estas estão disponíveis online no formato PDF, prático e compacto, no endereço www.qiagen.com/safety onde é possível encontrar, visualizar e imprimir as SDS para cada kit da QIAGEN® e respectivos componentes.

Para informações de segurança relativas ao kit de purificação utilizado, consultar o manual do kit relevante. Para informações de segurança relativas aos instrumentos, consultar o manual do utilizador dos instrumentos relevantes.

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, manter os tubos fechados sempre que possível 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 de kits com números de lotes diferentes.
- Certificar-se de que os adaptadores necessários são pré-arrefecidos a 2–8 °C.
- Trabalhar com rapidez e manter os reagentes de PCR em gelo ou no bloco de arrefecimento antes de proceder ao respectivo carregamento.
- Avançar continuamente entre etapas do procedimento. Não exceder em mais de 30 minutos o tempo de transferência entre cada módulo (QIASymphony SP para QIASymphony AS para Rotor-Gene Q).

Armazenamento e manuseamento de reagentes

Os componentes do *artus* HBV QS-RGQ Kit 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 pode afectar negativamente 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/artushbvpcrkitce.aspx.

Procedimento

Preparação dos instrumentos QIA Symphony SP/AS para utilização

Fechar todas as bandejas e coberturas.

Ligar os instrumentos QIA Symphony SP/AS e aguardar até que o ecrã "Sample Preparation" (preparação de amostras) apareça e que o procedimento de inicialização esteja concluído.

Aceder ao instrumento (as bandejas serão desbloqueadas).

Purificação de ADN viral

O *artus* HBV QS-RGQ Kit foi validado com um passo de purificação de ADN viral realizado no QIA Symphony SP utilizando um QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kit. Consultar o *Manual QIA Symphony DSP Virus/Pathogen* para obter todas as informações necessárias relativamente a como preparar o cartucho de reagente para o passo de purificação da amostra no QIA Symphony SP.

Utilização de um controlo interno e ARN portador (CARRIER)

A utilização conjunta dos QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kits com o *artus* HBV QS-RGQ Kit requer a introdução do controlo interno (HBV RG/TM IC) no procedimento de purificação para monitorizar a eficiência da preparação da amostra e ensaio downstream. Além disso, os QIA Symphony DSP Virus/Pathogen Kits poderão exigir a preparação de ARN portador (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/artushbvpcrkitce.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 standards de ensaio, para configuração de ensaio no QIA Symphony AS.

Para ensaios integrados no QIA Symphony SP/AS, o conjunto de parâmetros de ensaio é directamente ligado a um conjunto de controlo do ensaio adiantado especificando o processo de purificação da amostra associado.

Retornos de ácidos nucleicos

Os eluatos preparados com ARN portador (CARRIER) podem conter mais ARN portador (CARRIER) que os ácidos nucleicos alvo. Recomenda-se a utilização de métodos de amplificação quantitativos para determinar os retornos.

Armazenamento de ácidos nucleicos

Para períodos de armazenamento de curta duração até 24 horas, recomenda-se o armazenamento de ácidos nucleicos purificados a 2–8 °C. Para períodos de armazenamento de longa duração, superiores a 24 horas, recomenda-se o armazenamento a –20 °C.

Protocolo: Isolamento do ADN e configuração do ensaio no QIASymphony SP/AS

A descrição que se segue refere-se a um protocolo geral para a utilização dos QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kits. Informações detalhadas para uma aplicação específica, incluindo volumes e tubos, são fornecidas na folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.

Pontos importantes antes de iniciar o procedimento

- Certificar-se de que está familiarizado com o modo de funcionamento dos instrumentos QIASymphony SP/AS. Consultar os manuais do utilizador fornecidos com os instrumentos e as versões mais actuais 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, verificar se os tampões QSL2 e QSB1 no cartucho (RC) não contêm um precipitado. Se necessário, remover as cavidades contendo 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 correctas. 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, 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 detecção do nível líquido.
- Trabalhar com rapidez e manter os reagentes de PCR em gelo ou no bloco de arrefecimento antes de proceder ao respectivo carregamento.
- Os volumes de reagentes estão optimizados para 24 ou 72 reacções por kit por ensaio (n.º cat. 4506363 e 4506366, respectivamente).
- Antes de cada utilização, todos os reagentes têm de ser completamente descongelados, misturados (por pipetagem repetida para cima e para baixo ou por acção rápida do vórtex) e centrifugados durante, pelo menos, 3 segundos a 6.800 x g. Evitar a formação de espuma nos reagentes.

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

- Os eluatos da preparação da amostra e todos os componentes do *artus* HBV QS-RGQ Kit 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 30 minutos do QIA Symphony SP para o QIA Symphony AS e um tempo de transferência de até 30 minutos do QIA Symphony AS para o Rotor-Gene Q.

Passos a seguir antes de começar

- Preparar todas as misturas necessárias. Se necessário, preparar as misturas que contêm ARN portador (CARRIER) e controlos internos imediatamente antes de iniciar o procedimento. Para mais informações, consultar a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.
- Antes de iniciar o procedimento, certificar-se de que as partículas magnéticas estão completamente em suspensão. Agitar vigorosamente a cavidade contendo as partículas magnéticas no vórtex durante, pelo menos, 3 minutos antes da primeira utilização.
- Antes de carregar o cartucho do reagente (RC), remover a cobertura da cavidade contendo as partículas magnéticas e abrir os tubos de enzimas. Assegurar que o suporte de enzimas foi equilibrado à temperatura ambiente (15–25 °C).
- Assegurar que a cobertura perfurável (PL) é colocada no cartucho de reagente (RC) e que a cobertura da cavidade das partículas magnéticas foi removida ou, se for utilizado um cartucho de reagente (RC) parcialmente usado, assegurar que a tira vedante reutilizável foi removida.
- Caso as amostras tenham códigos de barras, orientar as amostras no porta-tubos, de forma a que os códigos de barras fiquem virados para o leitor de códigos de barras na bandeja "Sample" (amostra) no lado esquerdo do QIA Symphony SP.

Procedimento

Purificação de ADN viral no QIASymphony SP

1. **Fechar todas as bandejas e coberturas dos instrumentos QIASymphony 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 QIASymphony SP.

3. **Aceder aos instrumentos.**
4. **Preparar as bandejas que se seguem de acordo com a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.**

- Bandeja “Waste” (resíduos); quando preparada, realizar uma inventariação.
- Bandeja “Eluate” (eluato); quando preparada, realizar uma inventariação.
- Bandeja “Reagents and Consumables” (reagentes e consumíveis); quando preparada, realizar uma inventariação.
- Bandeja “Sample”

5. **Utilizando a configuração “Integrated run” (ensaio integrado) no ecrã táctil do QIASymphony, introduzir as informações necessárias para cada lote de amostras a ser processado. Seleccionar um conjunto de parâmetros de ensaio para o ensaio e atribuí-lo e o lote AS correspondente às amostras.**

As informações relativas ao conjunto de parâmetros de ensaio e volume de eluição pré-seleccionado são facultadas na folha de aplicação relevante.

Para mais informações sobre ensaios integrados no QIASymphony SP/AS, consultar os manuais do utilizador dos instrumentos.

6. **Durante a configuração de um ensaio integrado, confirmar a atribuição correcta de material de laboratório para a amostra, tipo de amostra (amostra, EC+ e EC-) e volumes.**

As informações relativas aos consumíveis e aos componentes a carregar em cada bandeja são facultadas na folha de aplicação relevante.

7. **Após a introdução das informações relativas a todos os lotes do ensaio integrado, clicar no botão “Ok” para sair da configuração “Integrated run”. O estado de todos os lotes na perspectiva geral do ensaio integrado muda de “LOADED” (carregado) para “QUEUED” (em fila). Assim que o lote é colocado em fila o botão “Run”**

(executar) aparece. Premir 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 de colocar um ensaio integrado em fila, abrir as bandejas do QIASymphony AS. Os componentes que é necessário carregar são apresentados no ecrã táctil.**
- 9. Certificar-se sempre de que as seguintes recomendações são levadas a cabo antes do ensaio integrado.**
 - Inserir o colector de pontas
 - Eliminar o saco de resíduos de pontas
 - Instalar um saco de resíduos de pontas vazio
- 10. Definir e carregar o(s) suporte(s) de ensaio. O(s) suporte(s) de ensaio, em adaptador(es) pré-arrefecido(s), é(são) carregado(s) na(s) ranhura(s) "Assay" (ensaio). As informações sobre os suportes de ensaio são facultadas na folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushbvpckitce.aspx.**
- 11. Verificar a temperatura das posições de arrefecimento.**

Quando as temperaturas-alvo de arrefecimento são atingidas, o pequeno asterisco ao lado de cada ranhura aparecerá a verde.
- 12. Juntar todos os tubos de HBV RG/TM Master num único kit num tubo antes de usar.**

Nota: Os reagentes viscosos podem ser difíceis de manusear com pipetas manuais. Certificar-se de que a totalidade do volume do Master é transferida para o tubo.
- 13. Encher cada tubo de ensaio com o volume adequado de 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 acção rápida do vórtex) e centrifugados durante, pelo menos, 3 segundos a 6.800 x g. Evitar a formação de bolhas ou espuma, que poderão causar erros de detecção. 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 reagentes e colocar os tubos de ensaio, sem tampas, nas posições adequadas dos adaptadores pré-arrefecidos para os reagentes de acordo com a folha de aplicação relevante.**

15. Carregar as bandejas “Eluate and Reagents” (eluato e reagentes) e “Assays” (ensaios) com pontas com filtros descartáveis, de acordo com o número necessário para cada tipo de ponta, indicado na folha de aplicação relevante.

16. Fechar as bandejas “Eluate and Reagents” e “Assays”.

17. Ao fechar cada bandeja, premir “Scan” (inventariação) para dar início à inventariação de cada bandeja.

A inventariação verifica as ranhuras, adaptadores, pontas com filtros e colector de pontas, assim como o carregamento correcto de volumes de reagente específicos. Se necessário, corrigir quaisquer erros.

A configuração do ensaio irá iniciar automaticamente após o passo de purificação no QIASymphony SP estar concluído e os suportes de eluato terem sido transferidos para o QIASymphony AS.

18. Após finalizar o ensaio, premir “Remove” (remover) no ecrã “Overview” (perspectiva geral) da configuração do ensaio. Abrir a bandeja “Assays” e descarregar o(s) suporte(s) de ensaio.

19. Efectuar a transferência dos ficheiros de resultados e do ciclador.

20. Se vários lotes no QIASymphony AS estiverem configurados num ensaio integrado, recarregar as bandejas do QIASymphony AS, iniciando no passo 8.

21. Prosseguir para “Protocolo: PCR no Rotor-Gene Q”, página 17.

22. Efectuar a manutenção regular do QIASymphony AS durante ou após o ensaio de PCR no Rotor-Gene Q.

Dado que o procedimento é uma operação integrada, limpar todos os instrumentos no final do procedimento.

Seguir as instruções de manutenção no Manual do Utilizador do QIASymphony SP/AS – Descrição Geral (*QIASymphony SP/AS User Manual — General Description*). Certificar-se de que a manutenção é regularmente efectuada, de forma a minimizar o risco de contaminação cruzada.

Protocolo: 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 uma interpretação automática dos resultados da PCR, poderá ser usado o Rotor-Gene AssayManager* em vez do software para Rotor-Gene Q.
- Assegurar que todos os 5 padrões de quantificação, bem como pelo menos um controlo negativo (água, grau de PCR) são incluídos por cada ensaio de PCR. Para gerar uma curva standard, utilizar todos os 5 padrões de quantificação fornecidos (HBV RG/TM QS 1–5) para cada ensaio de PCR.

Procedimento

1. **Fechar os tubos de PCR e colocá-los no rotor de 72 poços do Rotor-Gene Q. Assegurar que as tiras de 4 tubos Rotor-Gene Q são transferidas na orientação correcta, por forma a respeitar a correspondência entre os índices das posições do adaptador de arrefecimento e do rotor. Assegurar que o anel de bloqueio (acessório do instrumento Rotor-Gene) é colocado no topo do rotor para evitar a abertura accidental dos tubos durante o ensaio.**
2. **Transferir o ficheiro do ciclador do QIASymphony AS para o computador Rotor-Gene Q.**
3. **Para a detecção de ADN do VHB, criar um perfil de temperatura e iniciar o ensaio de acordo com a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx. Informações específicas do software acerca da programação do Rotor-Gene Q são fornecidas na folha de protocolo relevante "Settings to run artus QS-RGQ Kits" (Definições para ensaios nos *artus* QS-RGQ Kits) em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx.**

* Prevê-se que o Rotor-Gene AssayManager esteja disponível no final de 2012.

Interpretação de resultados

Consultar a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx para obter informações pormenorizadas acerca da interpretação de resultados.

Guia de resolução de problemas

Este guia de resolução de problemas pode ser útil para resolver qualquer problema que possa surgir. Para obter mais informações, consultar também a página de perguntas frequentes no nosso Centro de Suporte Técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Os cientistas da Assistência Técnica da QIAGEN estão sempre prontos a responder a qualquer questão que possa surgir sobre as informações e protocolos constantes neste manual ou sobre as tecnologias de amostragem e ensaio (para informações de contacto, consultar o verso do manual ou visitar www.qiagen.com).

Comentários e sugestões

Manuseamento geral

Mensagem de erro visualizada no ecrã táctil

Se for visualizada uma mensagem de erro durante um ensaio do protocolo, consultar os manuais do utilizador que acompanham os instrumentos.

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

- 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 seladas com tiras vedantes reutilizáveis, quando 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 contendo 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 correctas. 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, certificar-se de que as partículas magnéticas estão completamente em suspensão. 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 correcta homogeneização.
- c) ARN portador (CARRIER) não adicionado
- Reconstituir o ARN portador (CARRIER) em tampão AVE (AVE) e misturar com um volume adequado de tampão AVE (AVE) conforme se descreve na folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx. Repetir o procedimento de purificação com novas amostras.
- d) Ácidos nucleicos degradados
- As amostras foram armazenadas incorrectamente ou sujeitas a demasiados ciclos de congelamento-descongelamento. Repetir o procedimento de purificação com novas amostras.

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

Comentários e sugestões

- e) Lise incompleta da amostra
- Antes de usar, verificar se o tampão QSL2 e QSB1 não contêm precipitados. Se necessário, remover as cavidades contendo 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 de vírus, centrifugar a amostra a 3.000 x g durante 1 minuto e transferir o sobrenadante para um novo tubo de amostra.

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

Comentários e sugestões

QIAasymphony AS detecta Master insuficiente

Não foi transferida a totalidade do Master para o tubo

Juntar todos os tubos de HBV RG/TM Master num único kit num tubo antes de usar. Os reagentes viscosos podem ser difíceis de manusear com pipetas manuais. Certificar-se de 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 μ l para um volume de 800 μ l).

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 (HBV RG/TM QS 1–5) no canal de fluorescência Cycling Green

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

Para análise de dados, seleccione o canal de fluorescência Cycling Green para a PCR de VHB analítica e o canal de fluorescência Cycling Yellow para a PCR do controlo interno.

b) Programação incorrecta 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/artushbvpcrkitce.aspx.

Comentários e sugestões

- c) Configuração incorrecta da PCR Assegurar que a configuração do ensaio foi efectuada correctamente e que foi utilizado o conjunto de parâmetros correcto. Repetir a PCR, se necessário. Consultar a folha de aplicação relevante em www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.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 *artus* HBV QS-RGQ Kit 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 QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit no canal de fluorescência Cycling Yellow 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 é utilizado o método de isolamento validado (consultar "Protocolo: Isolamento do ADN e configuração do ensaio no QIASymphony SP/AS", na página 12) e seguir rigorosamente as instruções.

Comentários e sugestões

- c) ADN foi perdido durante a extracção
- Um sinal ausente do controlo interno pode indicar perda de ADN durante a extracção. Assegurar que é utilizado o método de isolamento validado (consultar “Protocolo: Isolamento do ADN e configuração do ensaio no QIASymphony 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 *artus* HBV QS-RGQ Kit 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 directamente após adicionar a amostra a ser testada.
- Assegurar que o espaço de trabalho e instrumentos são regularmente descontaminados.
- b) Contaminação ocorrida durante a extracção
- Repetir a extracção e PCR da amostra a ser testada usando novos reagentes.
- Assegurar que o espaço de trabalho e instrumentos são regularmente descontaminados.

Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão da Qualidade Total da QIAGEN certificado pela norma ISO, todos os lotes do *artus* HBV QS-RGQ Kit 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.

Deve prestar-se atenção aos prazos de validade impressos na caixa e nas etiquetas 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 detectar a presença do vírus. A validade e o desempenho do ensaio são revistos regularmente.

Características de desempenho

Consultar www.qiagen.com/products/artushbvpcrkitce.aspx para verificar as características de desempenho do *artus* HBV QS-RGQ Kit.

Referências

A QIAGEN mantém uma abrangente base de dados online actualizada de publicações científicas que utilizam produtos QIAGEN. As opções de pesquisa avançada permitem localizar os artigos necessários, quer através da pesquisa por uma única palavra-chave, quer especificando a aplicação, área de investigação, título, etc.

Para obter uma lista completa de referências, visitar a base de dados de referências da QIAGEN online em www.qiagen.com/RefDB/search.asp ou contactar a Assistência Técnica ou o distribuidor local da QIAGEN.

Símbolos



Contém reagentes suficientes para <N> reacções



Prazo de validade



Dispositivo médico para diagnóstico in vitro



Número de catálogo



Número do lote



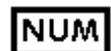
Número do material



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	Conteúdo	N.º cat.
<i>artus</i> HBV QS-RGQ Kit (24)	Para 24 reacções: Master, 5 padrões de quantificação, controlo interno, água (grau PCR)	4506363
<i>artus</i> HBV QS-RGQ Kit (72)	Para 72 reacções: Master, 5 padrões de quantificação, controlo interno, água (grau PCR)	4506366
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 informações actualizadas sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consultar o respectivo manual 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.

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

Esta página foi intencionalmente deixada em branco

A aquisição deste produto permite ao comprador o seu uso para efectuar 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®, QIASymphony®, artus®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

O artus HBV QS-RGQ Kit é um kit de diagnóstico com a marca CE, de acordo com a Directiva Europeia 98/79/CE relativa ao Diagnóstico In Vitro. Não disponível em todos os países.

Acordo de licença limitada

A utilização deste produto implica a concordância por parte de qualquer comprador ou utilizador do artus HBV QS-RGQ Kit com os seguintes termos:

1. O artus HBV QS-RGQ Kit pode ser usado somente de acordo com o *Manual do artus HBV QS-RGQ Kit* e apenas para utilização com os componentes contidos no kit. A QIAGEN não concede qualquer licença ao abrigo de sua propriedade intelectual para usar ou incorporar os componentes englobados neste kit em qualquer componente não incluído neste kit, excepto conforme descrito no *Manual do artus HBV QS-RGQ Kit* e em quaisquer protocolos adicionais disponíveis em www.qiagen.com.
2. À excepção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não emite 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 objecto de revenda.
4. A QIAGEN recusa especificamente qualquer outra licença, expressa ou implícita, à excepção 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 actos 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 actualizados, visitar www.qiagen.com.

© 2010–14 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

