

Manual do Kit

artus[®] BK Virus QS-RGQ

Diagnóstico quantitativo *in vitro*

Para uso com os instrumentos QIAasymphony[®] SP/AS
e Rotor-Gene[®] Q

Versão 1



4514363



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden



1062622PT-BR

Sumário

Uso previsto	3
Resumo e explicação	4
Informações do agente patogênico	4
Princípio do procedimento	4
Conjuntos de Controle do Ensaio e Conjuntos de Parâmetros do Ensaio	5
Materiais fornecidos	6
Conteúdo do kit	6
Materiais necessários mas não fornecidos	7
Avisos e precauções	8
Informações de segurança	8
Precauções gerais	8
Armazenamento e manuseio de reagentes	9
Armazenamento e manuseio de amostras	9
Purificação de DNA viral	10
Isolamento do DNA e configuração do ensaio no QIAasymphony SP/AS	11
PCR no Rotor-Gene Q	17
Interpretação dos resultados	18
Guia de resolução de falhas	18
Controle de qualidade	25
Limitações	25
Características de desempenho	25
Símbolos	26
Informações para pedidos	28

Uso previsto

O Kit *artus* BK Virus QS-RGQ é um teste de amplificação de ácido nucleico *in vitro* para a quantificação do DNA do vírus BK em amostras biológicas humanas. Este kit de teste diagnóstico utiliza a reação em cadeia da polimerase (PCR) e é configurado para uso com os instrumentos QIA Symphony SP/AS e Rotor-Gene Q. Para mais informações sobre as amostras biológicas humanas específicas com as quais o kit foi validado, consulte as Fichas de Aplicação, disponíveis on-line em www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckrite.aspx.

A QIAGEN continua desenvolvendo e validando outras aplicações dos kits *artus* QS-RGQ, como o uso com outros tipos de amostra.

A versão mais recente deste manual e as Fichas de Aplicação correspondentes estão disponíveis on-line em www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckrite.aspx.

O Kit *artus* BK Virus QS-RGQ deve ser usado em conjunto com a apresentação clínica e outros marcadores laboratoriais de prognóstico da doença.

Como a QIAGEN monitora o desempenho do ensaio e valida novas alegações continuamente, os usuários devem garantir que estão trabalhando com a revisão mais recente das instruções de uso.

Nota: Antes da execução do teste, verifique a disponibilidade de novas revisões de classificação eletrônica em www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckrite.aspx.

Todos os kits podem ser usados com os materiais de instrução correspondentes desde que o número da versão do manual e outras informações nas etiquetas correspondam ao número da versão do kit. O número da versão encontra-se na etiqueta de cada caixa do kit. A QIAGEN garante a compatibilidade entre todos os lotes do kit de teste com o mesmo número de versão.

Resumo e explicação

O kit *artus* BK Virus QS-RGQ compõe um sistema pronto para uso para a detecção do DNA do vírus BK com o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) nos instrumentos Rotor-Gene Q, com a preparação da amostra e a configuração do ensaio usando os instrumentos QIA Symphony SP/AS.

Informações do agente patogênico

O vírus BK (BKV) é um vírus de DNA pertencente aos poliomavírus. A infecção primária ocorre principalmente durante a infância e normalmente é assintomática. A soroprevalência em adultos é de até 90%. Após a infecção primária, o BKV permanece latente nas células renais e pode ser reativado em condições de imunodeficiência, como um transplante.

A infecção pelo BKV pode estar correlacionada à nefrite tubulointersticial e à estenose ureteral em receptores de transplante renal, e à cistite hemorrágica em receptores de transplante de medula óssea. Ela também é associada a padrões patológicos de vasculopatia, pneumonite, encefalite, retinite e até mesmo à falência múltipla dos órgãos.

O alto nível de replicação persistente do BKV é a característica típica da nefropatia associada ao poliomavírus (NAP) em pacientes submetidos a transplante renal. As infecções de importância clínica são normalmente limitadas a indivíduos imunodeprimidos.

Princípio do procedimento

O BK Virus RG Master contém reagentes e enzimas para a amplificação específica de uma região de 274 bp do genoma do vírus BK, e para a detecção direta do amplicon específico no canal de fluorescência Cycling Green do Rotor-Gene Q.

Além disso, o Kit *artus* BK Virus QS-RGQ contém um segundo sistema de amplificação heteróloga para identificar uma possível inibição da PCR. Isso é detectado como um controle interno (internal control, IC) no canal de fluorescência Cycling Orange do Rotor-Gene Q. O limite de detecção da PCR analítica do vírus BK não é reduzido.

São fornecidos controles externos positivos (BK Virus RG QS 1–4), que permitem a determinação da quantidade de DNA viral. Para mais informações, consulte a Ficha de Aplicação correspondente em www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgprkitce.aspx.

O controle negativo (Água, grau PCR) monitora a PCR quanto a contaminação e é chamado de **NTC** (no template control, sem controle de modelo) no software QIAAsymphony.

Conjuntos de Controle do Ensaio e Conjuntos de Parâmetros do Ensaio

Os Conjuntos de Controle do Ensaio são a combinação de um protocolo e de outros parâmetros, como o controle interno, para a purificação da amostra no QIAAsymphony SP. Para cada protocolo, há um Conjunto de Controle do Ensaio padrão pré-instalado.

Os Conjuntos de Parâmetros do Ensaio são a combinação de uma definição do ensaio e de outros parâmetros definidos, como a contagem de réplicas e o número de padrões do ensaio, para a sua configuração no QIAAsymphony AS.

Para ensaios integrados no QIAAsymphony SP/AS, o Conjunto de Parâmetros do Ensaio é ligado diretamente a um Conjunto de Controle do Ensaio prévio que especifica o procedimento de purificação de amostra correspondente.

Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

artus BK Virus QS-RGQ Kit			(24)
Referência			4514363
Número de reações			24
Cor da	Nome do componente	Símbolo	Quantidade
Azul	BK Virus RG Master	MASTER [§]	4 × 84 µL
Amarelo	BK Virus Mg-Sol*	MG-SOL [§]	400 µL
Vermelho	BK Virus QS 1 [†] (1 × 10 ⁴ cópias/µL)	QS [§]	200 µL
Vermelho	BK Virus QS 2 [†] (1 × 10 ³ cópias/µL)	QS [§]	200 µL
Vermelho	BK Virus QS 3 [†] (1 × 10 ² cópias/µL)	QS [§]	200 µL
Vermelho	BK Virus QS 4 [†] (1 × 10 ¹ cópias/µL)	QS [§]	200 µL
Verde	BK Virus RG IC [‡]	IC [§]	1000 µL
Branco	Água (grau de PCR)		1000 µL
Manual			1

* Solução de magnésio.

[†] Padrão de quantificação.

[‡] Controle interno.

[§] Consulte a página 26 para ver a lista de símbolos e definições.

Materiais necessários mas não fornecidos

Importante: Certifique-se de que os instrumentos usados neste procedimento tenham sido verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

Equipamento básico de laboratório

- Pipetas ajustáveis e ponteiros de pipetas estéreis com filtros
- Misturador vórtex
- Banho-maria com capacidade de incubação a 37 °C
- Centrífuga de bancada com rotor para tubos de reação de 2 ml e capacidade de centrifugação a 6.800 x g.

Equipamentos e materiais adicionais para preparação de amostras

- QIASymphony SP (módulo do QIASymphony RGQ) (Ref.º 9001297)
- QIASymphony AS (módulo do QIASymphony RGQ) (Ref.º 9001301)
- Software QIASymphony versão 4.0
- QIASymphony DSP Virus/Pathogen Kit (Ref.º 937036 ou 937055)

Equipamentos adicionais para PCR

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM or Rotor-Gene Q 5plex HRM instrument (Instrumento Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ou Rotor-Gene Q 5plex HRM) (módulo do QIASymphony RGQ)
- Software Rotor-Gene Q, versão 2.1 ou superior

Nota: Mais informações sobre os materiais necessários para aplicações específicas encontram-se na Ficha de Aplicação correspondente em www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Avisos e precauções

Para uso em diagnóstico *in vitro*

Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre utilize um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (safety data sheets, SDSs) pertinentes. Elas estão disponíveis on-line em formato PDF no site www.qiagen.com/safety, onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a ficha SDS de cada Kit QIAGEN e componente do kit.

Para obter informações de segurança sobre o kit de purificação usado, consulte o manual do kit relevante. Para obter informações de segurança sobre os módulos dos instrumentos, consulte o manual do usuário do instrumento pertinente.

Elimine as amostras, líquidos e resíduos dos ensaios de acordo com os regulamentos ambientais e de segurança locais e nacionais.

Precauções gerais

Observe sempre o seguinte:

- Usar ponteiras de pipetas estéreis com filtros.
- Durante as etapas manuais, os tubos devem permanecer fechados sempre que possível para evitar contaminação.
- Se todos os componentes foram descongelados por completo em temperatura ambiente (15 a 25 °C) antes do início do ensaio.

- Se depois de descongelados, os componentes foram misturados (chacoalhando repetidamente a pipeta ou no agitador de vórtex de pulso) e centrifugados brevemente. Se não há espuma ou bolhas nos tubos de reagentes.
- Não misturar componentes de kits com números de lote diferentes.
- Garantir que os adaptadores necessários sejam resfriados previamente entre 2 e 8 °C.
- Trabalhar rapidamente e manter os reagentes da PCR em gelo ou no bloco de resfriamento antes do carregamento.
- Avançar de uma parte do fluxo de trabalho para a outra sem interrupções. O tempo de transferência entre cada módulo (QIASymphony SP para QIASymphony AS para Rotor-Gene Q) não deve ultrapassar 30 minutos.

Armazenamento e manuseio de reagentes

Os componentes do Kit *artus* BK Virus QS-RGQ devem ser armazenados entre -15 e -30 °C e são estáveis até a data de validade impressa na etiqueta. Deve-se evitar repetir o processo de descongelamento e congelamento (> 2 vezes), uma vez que isso pode reduzir o desempenho do ensaio. Se os reagentes se destinarem a ser usados apenas de forma intermitente, deverão ser congelados em alíquotas. A armazenagem a 2–8 °C não pode exceder um período de 5 horas.

Armazenamento e manuseio de amostras

Mais informações sobre o armazenamento e o manuseio de amostras para aplicações específicas encontram-se na Ficha de Aplicação correspondente em www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgprkitce.aspx.

Purificação de DNA viral

O Kit *artus* BK Virus QS-RGQ foi validado com uma etapa de purificação de DNA viral, realizada no QIAAsymphony SP com o uso de um kit QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen. Consulte o manual do usuário *QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen (QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Handbook)* para obter todas as informações sobre como preparar o cartucho de reagentes para a etapa de purificação de amostra no QIAAsymphony SP.

Uso de um controle interno e RNA transportador (CARRIER)

O uso dos kits QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen em combinação com o Kit *artus* BK Virus QS-RGQ exige a introdução do controle interno (BK Virus RG IC) no procedimento de purificação para monitorar a eficiência da preparação da amostra e do ensaio posterior. Além disso, os kits QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen podem exigir a preparação do RNA transportador (CARRIER).

Para obter informações específicas sobre o controle interno e o uso do RNA transportador (CARRIER), consulte a Ficha de Aplicação correspondente em www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

Rendimentos de ácidos nucleicos

Eluídos preparados com RNA transportador (CARRIER) podem conter muito mais RNA transportador (CARRIER) do que os ácidos nucleicos visados. É recomendável o uso de métodos de amplificação quantitativa para determinar os rendimentos.

Armazenamento de ácidos nucleicos

Para o armazenamento por períodos curtos de até 24 horas, recomenda-se armazenar os ácidos nucleicos purificados entre 2 e 8 °C. Para períodos de mais de 24 horas, recomenda-se o armazenamento a -20 °C.

Ativação dos instrumentos QIASymphony SP/AS

1. Feche todas as gavetas e as tampas.
2. Ligue os instrumentos QIASymphony SP/AS e espere aparecer a tela **Sample Preparation** (Preparo de amostras) e terminar o procedimento de inicialização.
3. Faça login no instrumento (as gavetas serão destravadas).

Isolamento do DNA e configuração do ensaio no QIASymphony SP/AS

A descrição a seguir é um protocolo geral para uso com os kits QIASymphony DSP Virus/Pathogen. Para ver informações detalhadas de uma aplicação específica, inclusive de volumes e tubos, consulte a Ficha de Aplicação correspondente em site www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgprkitce.aspx.

Pontos importantes antes de iniciar

- Familiarize-se com o funcionamento dos instrumentos QIASymphony SP/AS. Consulte os manuais do usuário fornecidos com os instrumentos e as versões mais recentes disponíveis on-line no site www.qiagen.com/products/qiasymphonyrgq.aspx para obter instruções de funcionamento.
- Antes de usar um cartucho de reagentes (reagent cartridge, RC) pela primeira vez, verifique se os Tampões QSL2 e QSB1 no cartucho (RC) não contêm nenhum precipitado.

Se necessário, remova os reservatórios que contêm os Tampões QSL2 e QSB1 do cartucho de reagentes (RC) e incube-os durante 30 minutos a 37 °C, agitando-os ocasionalmente para dissolver o precipitado. Recoloque os reservatórios nas posições corretas. Se o cartucho de reagentes (RC) já estiver perfurado, vede os reservatórios com tiras de vedação reutilizáveis e incube o cartucho de reagentes (RC) inteiro durante 30 minutos a 37 °C, agitando-o ocasionalmente em um banho-maria.

- Evite agitar vigorosamente o cartucho de reagentes (RC) para não gerar espuma, o que poderia causar problemas de detecção do nível de líquido.
- Trabalhe rapidamente e mantenha os reagentes da PCR em gelo ou no bloco de resfriamento antes do carregamento.
- Os volumes de reagente são otimizados para 24 reações por kit por ensaio.
- Antes de cada utilização, todos os reagentes precisam ser descongelados completamente, misturados (chacoalhando repetidamente a pipeta ou no agitador de vórtex de pulso) e centrifugados durante pelo menos 3 segundos a 6.800 x g. Evite a formação de espuma nos reagentes.
- Foi comprovado que os eluídos da preparação de amostras e todos os componentes do Kit *artus* BK Virus QS-RGQ são estáveis quando no instrumento pelo menos pelo tempo normal necessário para a purificação de 96 amostras e a configuração de 72 ensaios, incluindo até 30 minutos de tempo de transferência do QIAAsymphony SP para o QIAAsymphony AS e até 30 minutos de tempo de transferência do QIAAsymphony AS para o Rotor-Gene Q.

O que fazer antes de iniciar

- Prepare todas as misturas necessárias. Se necessário, prepare as misturas que contenham RNA transportador (CARRIER) e os controles internos pouco antes de começar. Para mais informações, consulte a Ficha de Aplicação correspondente em www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgqprkitce.aspx.
- Antes de iniciar o procedimento, verifique se todas as partículas magnéticas estão completamente ressuspensas. Agite em vórtex vigorosamente o reservatório que contém partículas magnéticas por, pelo menos, 3 minutos antes da primeira utilização.
- Antes de carregar o cartucho de reagentes (RC), remova a tampa do reservatório que contém as partículas magnéticas e abra os tubos de enzimas. Equilibre o rack de enzimas à temperatura ambiente (15 a 25 °C).
- Verifique se a tampa perfurante (piercing lid, PL) está inserida no cartucho de reagentes (RC) e se a tampa do reservatório de partículas magnéticas foi removida ou, caso esteja

utilizando um cartucho de reagentes (RC) parcialmente usado, verifique se as tiras de vedação reutilizáveis foram removidas.

- Se as amostras tiverem código de barras, oriente-as no porta-tubos para uma posição em que os códigos de barras fiquem virados para o respectivo leitor na gaveta "Sample" (Amostra) à esquerda do QIASymphony SP.

Configuração do QIASymphony SP

1. Feche todas as gavetas e as tampas dos instrumentos QIASymphony SP/AS.
2. Ligue os instrumentos e espere aparecer a tela **Sample Preparation** (Preparo de amostras) e terminar o procedimento de inicialização.

O interruptor liga/desliga está localizado no canto inferior esquerdo do QIASymphony SP.

3. Faça logon nos instrumentos.
4. Prepare as gavetas a seguir de acordo com a Ficha de Aplicação pertinente no site www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx.

- Gaveta "Waste" (Resíduos)
Quando estiver pronta, realize uma verificação de inventário.
- Gaveta "Eluate" (Eluídos)
Quando estiver pronta, realize uma verificação de inventário.
- Gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e Consumíveis)
Quando estiver pronta, realize uma verificação de inventário.
- Gaveta "Sample" (Amostra)

5. Usando a configuração de **Integrated run** (Ensaio integrado) na tela sensível a toque do QIASymphony, insira as informações necessárias para cada lote de amostras a ser processado.
6. Selecione um Conjunto de Parâmetros do Ensaio para o ensaio e atribua-o, assim como o lote AS correspondente, às amostras.

As informações sobre o Conjunto de Parâmetros do Ensaio e o volume de eluição pré-selecionado são fornecidos na Ficha de Aplicação correspondente.

Para obter mais informações sobre os ensaios integrados no QIASymphony SP/AS, consulte os manuais do usuário dos instrumentos.

7. Ao configurar um ensaio integrado, verifique se a atribuição de equipamentos para manipulação de amostras, do tipo de amostra (amostra, EC+ e EC-) e dos volumes está correta.

Na Ficha de Aplicação correspondente, são fornecidas informações sobre os produtos consumíveis e os componentes a serem carregados em cada gaveta.

8. Após inserir as informações sobre todos os lotes do ensaio integrado, clique no botão **Ok** para sair da configuração de **Integrated run** (Ensaio integrado).
9. O status de todos os lotes na visão geral do ensaio integrado se altera de **LOADED** (Carregado) para **QUEUED** (Na fila de espera). Assim que um lote entra em fila de espera, o botão **Run** (Executar) é exibido. Pressione o botão **Run** (Executar) para iniciar o procedimento.

Todos os passos de processamento são inteiramente automatizados.

Configuração do QIASymphony AS

1. Após colocar um ensaio integrado na fila de espera, abra as gavetas do QIASymphony AS. Os componentes necessários a serem carregados são exibidos na tela sensível a toque.
2. Lembre-se sempre de fazer o seguinte antes do ensaio integrado:
 - Insira o tubo de descarte de ponteiras
 - Jogue fora o saco de descarte de ponteiras
 - Instale um saco de descarte de ponteiras vazio
3. Defina e carregue o(s) rack(s) de ensaio.

Os racks de ensaio nos adaptadores previamente resfriados são carregados nos compartimentos "Assay" (Ensaio).

Na Ficha de Aplicação correspondente, no site www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgprkitce.aspx, são fornecidas informações sobre os racks de ensaio.

4. Verifique a temperatura das posições de resfriamento.

Quando as temperaturas de resfriamento desejadas forem atingidas, o pequeno asterisco ao lado de cada compartimento ficará verde.

5. Combine todos os tubos do BK Virus RG Master de um único kit em um só tubo antes de usar.

Nota: Reagentes viscosos podem ser difíceis de manipular com pipetas manuais. Certifique-se de transferir todo o volume do BK Virus RG Master no tubo.

6. Preencha cada tubo de reagente com o volume necessário do reagente apropriado, de acordo com as informações de carregamento fornecidas pelo software do instrumento.

Nota: Antes de cada utilização, todos os reagentes precisam ser descongelados completamente, misturados (chacoalhando repetidamente a pipeta ou no agitador de vórtex de pulso) e centrifugados durante pelo menos 3 segundos a 6.800 x g. Evite a formação de bolhas ou espuma, pois isso pode causar erros de detecção. Trabalhe rapidamente e mantenha os componentes da PCR em gelo ou no bloco de resfriamento antes do carregamento.

7. Carregue o rack de reagentes e coloque os tubos, sem as tampas, nas posições adequadas dos adaptadores previamente resfriados dos reagentes, de acordo com a Ficha de Aplicação pertinente.
8. Carregue os filtros descartáveis nas gavetas "Eluate and Reagents" (Eluído e reagentes) e "Assays" (Ensaio) de acordo com o número necessário de cada tipo de ponteira, indicado na Ficha de Aplicação pertinente.
9. Feche as gavetas "Eluate and Reagents" (Eluído e reagentes) e "Assays" (Ensaio).
10. Após fechar cada gaveta, pressione **Scan** (Verificar) para iniciar a verificação de inventário de cada gaveta.

A verificação de inventário confere os compartimentos, adaptadores, filtros e o tubo de descarte de ponteiras, assim como o carregamento correto de volumes específicos de reagentes. Se necessário, corrija possíveis erros.

A configuração do ensaio iniciará automaticamente depois que a etapa de purificação no QIASymphony SP estiver concluída e os racks de eluídos forem transferidos para o QIASymphony AS.

11. Após o término do ensaio, pressione **Remove** (Remover) na tela **Overview** (Visão geral) da configuração do ensaio. Abra a gaveta "Assays" (Ensaio) e carregue o(s) rack(s) de ensaio.
12. Baixe os arquivos de resultados e da cicladora.
13. Se houver vários lotes no QIASymphony AS configurados em um ensaio integrado, recarregue as gavetas do QIASymphony AS a partir da etapa 1.
14. Prossiga para "PCR no Rotor-Gene Q", na página 17.
15. Realize a manutenção de rotina do QIASymphony AS durante o ensaio de PCR no Rotor-Gene Q ou posteriormente.

Como o fluxo de trabalho é uma operação integrada, limpe todos os instrumentos ao final do fluxo de trabalho concluído.

Siga as instruções de manutenção no manual do usuário QIASymphony SP/AS – Descrição Geral (*QIASymphony SP/AS User Manual – General Description*). Realize a manutenção regularmente para minimizar o risco de contaminação cruzada.

PCR no Rotor-Gene Q

Pontos importantes antes de iniciar

- Reserve um tempo para se familiarizar com o instrumento Rotor-Gene Q antes de iniciar o protocolo. Consulte o manual do usuário do equipamento.
- Certifique-se de que os 4 padrões de quantificação e pelo menos um controle negativo (Água, grau PCR) sejam incluídos por ensaio de PCR. Para gerar uma curva padrão, use os 4 padrões de quantificação fornecidos (BK Virus QS 1–4) para cada ensaio de PCR.

1. Feche os tubos da PCR e coloque-os no Rotor de 72 poços do Rotor-Gene Q.
2. Transfira as tiras com 4 tubos do Rotor-Gene Q na orientação correta para que os indicadores de posição do adaptador de resfriamento e do rotor coincidam.
3. Certifique-se de que o anel de travamento (acessório do instrumento Rotor-Gene Q) esteja posicionado sobre o rotor para evitar a abertura acidental dos tubos durante o ensaio.
4. Transfira o arquivo da cicladora do QIASymphony AS para o computador do Rotor-Gene Q.
5. Para a detecção do BK Virus DNA, crie um perfil de temperatura e inicie o ensaio de acordo com a Ficha de Aplicação pertinente no site **www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx**.
Informações específicas do software sobre a programação do Rotor-Gene Q são fornecidas na Ficha de Protocolo correspondente, Configurações para executar os Kits *artus QS RGQ (Settings to run artus QS RGQ Kits)*, no site **www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx**.

Interpretação dos resultados

Consulte a Ficha de Aplicação correspondente no site

www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx para obter informações detalhadas sobre a interpretação dos resultados.

Guia de resolução de falhas

Este guia de resolução de falhas pode ser útil para resolver qualquer problema que possa surgir. Para obter as informações de contato, consulte a contracapa ou acesse www.qiagen.com.

Comentários e sugestões

Manuseio geral

Mensagem de erro exibida na tela sensível ao toque	Se uma mensagem de erro for exibida durante um ensaio integrado, consulte os manuais do usuário fornecidos com os instrumentos.
--	---

Precipitados no reservatório de reagentes do cartucho aberto do kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen

a) Evaporação do tampão	A evaporação excessiva pode levar ao aumento da concentração de sal ou à diminuição das concentrações de álcool nos tampões. Descarte o cartucho de reagentes (RC). Vede os reservatórios do tampão de um cartucho de reagentes (RC) parcialmente usado com as tiras de vedação reutilizáveis quando não estiverem sendo utilizados para purificação.
-------------------------	---

Comentários e sugestões

- b) Armazenamento do cartucho de reagentes (RC)
- O armazenamento do cartucho de reagentes (RC) em temperatura inferior a 15°C pode causar a formação de precipitados. Se necessário, remova os reservatórios que contêm os Tampões QSL2 e QSB1 do cartucho de reagentes (RC) e incube-os em banho-maria durante 30 minutos a 37 °C, agitando-os ocasionalmente para dissolver o precipitado. Recoloque os reservatórios nas posições corretas. Se o cartucho de reagentes (RC) já estiver perfurado, feche os reservatórios novamente com tiras de vedação reutilizáveis e incube o cartucho de reagentes (RC) inteiro em um banho-maria durante 30 minutos a 37 °C, agitando-o ocasionalmente.

Baixo rendimento de ácidos nucleicos

- a) As partículas magnéticas não foram completamente ressuspensas
- Antes de iniciar o procedimento, verifique se todas as partículas magnéticas estão completamente ressuspensas. Agite em vórtex por, pelo menos, 3 minutos antes de usar.
- b) As amostras congeladas não foram misturadas corretamente após o descongelamento
- Descongele as amostras congeladas com uma leve agitação para garantir uma mistura homogênea.
- c) RNA transportador (CARRIER) não adicionado
- Reconstitua o RNA transportador (CARRIER) no Tampão AVE (AVE) ou ATE (ATE) e misture com o volume adequado de Tampão AVE (AVE) ou ATE (ATE), como descrito na Ficha de Aplicação correspondente no site www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckitce.aspx. Repita o procedimento de purificação com novas amostras.

Comentários e sugestões

- d) Ácidos nucleicos degradados As amostras foram armazenadas incorretamente ou submetidas a muitos ciclos de congelamento e descongelamento. Repita o procedimento de purificação com novas amostras.
- e) Lise incompleta da amostra Antes de usar, verifique se o Tampão QSL2 e o QSB1 não contêm precipitados. Se necessário, remova os reservatórios que contêm os Tampões QSL1 e QSB1 do cartucho de reagentes (RC) e incube-os durante 30 minutos a 37 °C, agitando-os ocasionalmente para dissolver o precipitado. Se o cartucho de reagentes (RC) já estiver perfurado, feche os reservatórios novamente com tiras de vedação reutilizáveis e incube o cartucho de reagentes (RC) inteiro durante 30 minutos a 37 °C, agitando-o ocasionalmente em um banho-maria.
- f) Obstrução da ponta da pipeta devido a material insolúvel O material insolúvel não foi retirado da amostra antes do início do procedimento de purificação no QIA Symphony. Para remover o material insolúvel para aplicações virais, centrifugue a amostra a 3.000 x g durante 1 minuto e transfira o sobrenadante para um novo tubo de amostra.

Comentários e sugestões

O QIASymphony AS detecta que o Master é insuficiente

Nem todo o Master foi transferido para o tubo

Combine todos os tubos do BK Virus RG Master de um único kit em um só tubo antes de usar. Reagentes viscosos podem ser difíceis de manipular com pipetas manuais. Certifique-se de transferir todo o volume do Master no tubo.

Para reagentes viscosos, recomenda-se aspirar um volume extra de 5% ao usar pipetas manuais (p. ex., ajuste a pipeta para 840 µl para um volume de 800 µl).

Como alternativa, após dispensar o líquido lentamente e realizar o procedimento de sopro na parede do tubo de destino, remova a ponteira do líquido, solte o êmbolo da pipeta e aguarde mais 10 segundos. O líquido residual escorrerá pela ponteira e poderá ser soprado ao pressionar o êmbolo da pipeta uma segunda vez. O uso de filtros de grau PCR rotulados como de "baixa retenção" pode melhorar a recuperação do líquido.

Nenhum sinal com controles positivos (BK Virus RG QS 1–4) no canal de fluorescência Cycling Green

a) O canal de fluorescência selecionado para a análise dos dados de PCR não está em conformidade com o protocolo

Para a análise de dados, selecione o canal de fluorescência Cycling Green para a PCR analítica do vírus BK e o canal de fluorescência Cycling Orange para a PCR do controle interno.

Comentários e sugestões

- b) Programação incorreta do perfil de temperatura do instrumento Rotor-Gene Q
- Compare o perfil de temperatura com o protocolo. Consulte a Ficha de Aplicação e a Ficha de Protocolo pertinentes no site www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgprkitce.aspx.
- c) Configuração incorreta da PCR
- Confirme se a configuração do ensaio foi feita corretamente e se foi usado o Conjunto de Parâmetros do Ensaio correto. Se necessário, repita a PCR. Consulte a Ficha de Aplicação pertinente no site www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgprkitce.aspx.
- d) As condições de armazenamento de um ou mais componentes do kit não estavam de acordo com as instruções contidas em "Armazenamento e manuseio de reagentes" (página 9).
- Verifique as condições de armazenamento e a data de validade dos reagentes no rótulo do kit e, se necessário, utilize um novo kit.
- e) O Kit *artus* BK Virus QS-RGQ está vencido
- Verifique as condições de armazenamento e a data de validade dos reagentes no rótulo do kit e, se necessário, utilize um novo kit.

Comentários e sugestões

Sinal fraco ou inexistente do controle interno de uma amostra de plasma negativa submetida a purificação usando o Kit QIASymphony DSP Virus/Pathogen no canal de fluorescência Cycling Orange, e ausência simultânea de um sinal no canal Cycling Green

- | | |
|--|---|
| a) As condições de PCR não estão em conformidade com o protocolo | Verificar as condições da PCR (ver acima) e repetir a PCR com as configurações corrigidas, caso seja necessário. |
| b) A PCR foi inibida | Confirme se está sendo utilizado o método de isolamento validado (consulte "Isolamento do DNA e configuração do ensaio no QIASymphony SP/AS" na página 11) e siga atentamente as instruções. |
| c) DNA perdido durante a extração | <p>A ausência de um sinal do controle interno pode indicar a perda de DNA durante a extração. Confirme se está sendo utilizado o método de isolamento validado (consulte "Isolamento do DNA e configuração do ensaio no QIASymphony SP/AS" na página 11) e siga atentamente as instruções.</p> <p>Consulte também "Baixo rendimento de ácidos nucleicos" acima.</p> |

Comentários e sugestões

- d) As condições de armazenamento de um ou mais componentes do kit não estavam de acordo com as instruções contidas em "Armazenamento e manuseio de reagentes" (página 9)
- Verifique as condições de armazenamento e a data de validade dos reagentes no rótulo do kit e, se necessário, utilize um novo kit.
- e) O Kit *artus* BK Virus QS-RGQ está vencido
- Verifique as condições de armazenamento e a data de validade dos reagentes no rótulo do kit e, se necessário, utilize um novo kit.

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

- a) Ocorreu contaminação durante o preparo da PCR
- Repita a PCR com novos reagentes nas réplicas.
- Se possível, fechar os tubos de PCR diretamente após adicionar a amostra a ser testada.
- Certifique-se de que o local de trabalho e os equipamentos são descontaminados regularmente.
- b) A contaminação ocorreu durante a extração
- Repita a extração e a PCR da amostra a ser testada usando novos reagentes.
- Certifique-se de que o local de trabalho e os equipamentos são descontaminados regularmente.

Controle de qualidade

De acordo com o Sistema de Gerenciamento de Qualidade da QIAGEN, certificado pelo ISO, cada lote do kit *artus* BK Virus QS-RGQ é testado em relação a especificações predefinidas para assegurar a consistência na qualidade do produto.

Limitações

Todos os reagentes devem ser usados exclusivamente em processos de diagnóstico *in vitro*.

O produto deve ser utilizado somente por pessoal devidamente instruído e treinado nos processos de diagnóstico *in vitro*.

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

Deve-se prestar atenção às datas de validade impressas na caixa e nas etiquetas de todos os componentes. Não utilizar componentes vencidos.

Embora rara, a ocorrência de mutações nas regiões altamente preservadas do genoma viral cobertas pelos primers e/ou sonda do kit pode resultar em subquantificação ou falha em detectar a presença de vírus nesses casos. A validade e o desempenho do ensaio são revistos regularmente.

Características de desempenho

Consulte www.qiagen.com/products/artusbkvirusrgpckite.aspx para ver as características de desempenho do Kit *artus* BK Virus QS-RGQ.

Símbolos

A tabela a seguir descreve os símbolos que podem aparecer nas etiquetas ou neste documento.



<N>

Contém reagentes suficientes para <N> reações



Data de validade



Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*



Referência



Número do lote



Número do material



Componentes



Contém



Número

GTIN

Número Global de Item Comercial (Global Trade Item Number)

Rn

R refere-se à revisão do manual e n ao número da revisão



Limites de temperatura



Fabricante



Consulte as instruções de uso



Aviso

MASTER

Master

MG-SOL

Solução de magnésio

QS

Padrão de quantificação

IC

Controle interno

Informações para pedidos

Produto	Conteúdo	Ref.º
<i>artus</i> BK Virus QS-RGQ Kit (24)	Para 24 reações: Master, solução de magnésio, 4 padrões de quantificação, controle interno, água (grau PCR)	4514363
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit	Para 96 preparados (1.000 µl cada): inclui 2 cartuchos de reagente e racks de enzima e acessórios	937055
QIASymphony DSP Virus/Pathogen Mini Kit	Para 192 preparados (200 µl cada): inclui 2 cartuchos de reagente e racks de enzima e acessórios	937036
QIASymphony RGQ System	QIASymphony SP, QIASymphony AS, Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM, acessórios e produtos consumíveis necessários, instalação e treinamento	9001850

Para obter informações de licenciamento atualizadas e os avisos legais específicos do produto, consulte o manual do usuário ou o manual de instruções do kit QIAGEN correspondente. Os manuais dos kits da QIAGEN e do usuário estão disponíveis em **www.qiagen.com** ou podem ser solicitados aos Serviços técnicos ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Esta página foi deixada em branco intencionalmente

Esta página foi deixada em branco intencionalmente

A aquisição deste produto permite ao comprador 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 aquisição.

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, *artus*®, Rotor-Gene® (QIAGEN Group).

Os nomes registrados, marcas registradas, etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tais, não devem ser considerados como não protegidos pela lei.

O Kit *artus* BK Virus QS-RGQ é um kit de diagnóstico com marcação CE, em conformidade com a Diretiva da União Europeia para diagnósticos *in vitro* 98/79/CE. Não está disponível em todos os países.

Contrato de Licença Limitada do Kit *artus* BK Virus QS-RGQ

O uso desse produto implica a concordância por parte de qualquer comprador ou usuário do produto com os seguintes termos:

1. O produto pode ser usado somente de acordo com os protocolos fornecidos com o produto e esse manual e para uso com componentes contidos apenas no kit. A QIAGEN não concede qualquer licença sob sua propriedade intelectual para o uso ou incorporação dos 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 desses protocolos adicionais foram fornecidos pelos usuários da QIAGEN para os usuários da QIAGEN. Esses protocolos não foram testados por completo nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece garantias de que eles não infringem os direitos de terceiros.
2. Com exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este kit e/ou a sua(s) utilização(ões) não infrinja os direitos de terceiros.
3. Esse kit e seus componentes são licenciados para uso único e podem não ser reutilizáveis, reconstruídos nem revendidos.
4. A QIAGEN especificamente renuncia a quaisquer outras licenças, indicadas ou embutidas, a não ser àquelas expressamente indicadas.
5. O comprador e o usuário do kit concordam em não realizar nenhuma etapa, nem permitir que outra pessoa assim o faça, que possa levar ou facilitar quaisquer atos proibidos conforme descrito acima. A QIAGEN poderá executar as proibições desse Acordo de licença limitado em qualquer Tribunal. Também deverá recuperar todos os custos da investigação e relativos ao Tribunal, incluindo os encargos dos advogados, em qualquer ação para executar o Acordo de licença limitado ou quaisquer direitos de propriedade intelectual relacionados ao kit e/ou seus componentes.

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

HB-0399-007 1062622 154023597 05/2016

© 2010–2016 QIAGEN, todos os direitos reservados.

