

Janeiro de 2023

Instruções de uso (Manual) do QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA Kit



Versão 2



Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com o QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemanha



1130675PTBR

Conteúdo

Uso previsto	4
Usuário previsto	4
Descrição e princípio	5
Resumo e explicação	7
Materiais fornecidos	8
Conteúdo do kit	8
Materiais necessários, mas não fornecidos	9
Reagentes adicionais	9
Consumíveis	9
Equipamento.....	10
Protocolo e materiais de laboratório	10
Avisos e precauções	11
Informações de segurança.....	11
Informações de emergência.....	12
Precauções	13
Descarte.....	14
Armazenamento e manuseio de reagentes	15
Estabilidade em uso.....	15
Coleta, armazenamento e manuseio de espécimes.....	17
Procedimento	18
Purificação automatizada no QIASymphony SP.....	18
Protocolo: Purificação de DNA livre circulante	24

Controle de qualidade	29
Limitações.....	29
Características de desempenho	30
Guia de solução de problemas	31
Símbolos	33
Informações de contato	35
Apêndice: Quantificação de DNA livre circulante	36
Informações sobre pedidos	37
Histórico de revisões do documento.....	39

Uso previsto

O QIASymphony DSP Circulating DNA Kit utiliza uma tecnologia de partículas magnéticas para o isolamento e purificação automatizados do DNA livre circulante humano de amostras biológicas.

O QIASymphony DSP Circulating DNA Kit destina-se ao uso em diagnóstico in vitro.

Usuário previsto

O QIASymphony DSP Circulating DNA Kit destina-se a ser usado por usuários profissionais, como técnicos e médicos treinados em técnicas de biologia molecular.

Descrição e princípio

A tecnologia QIASymphony combina a velocidade e a eficiência da purificação de ácidos nucleicos com base em troca de ânions com o manuseio conveniente de partículas magnéticas (Figura 1, abaixo). O procedimento de purificação foi projetado para garantir o manuseio seguro e reprodutível de amostras potencialmente infecciosas e compreende 3 etapas: ligar, lavar e eluir (consulte o fluxograma, na página 6). O usuário pode escolher entre os diferentes volumes de inserção de amostra.

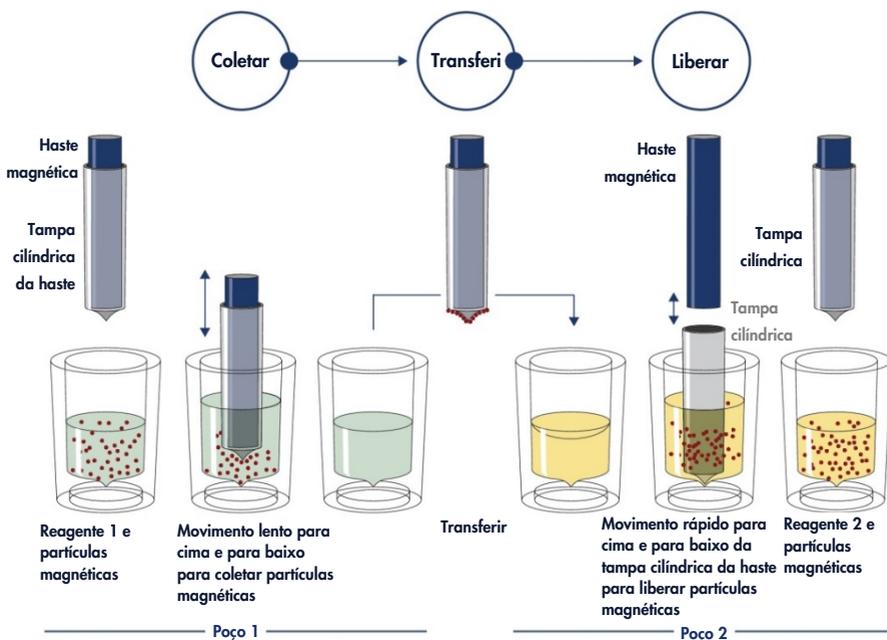
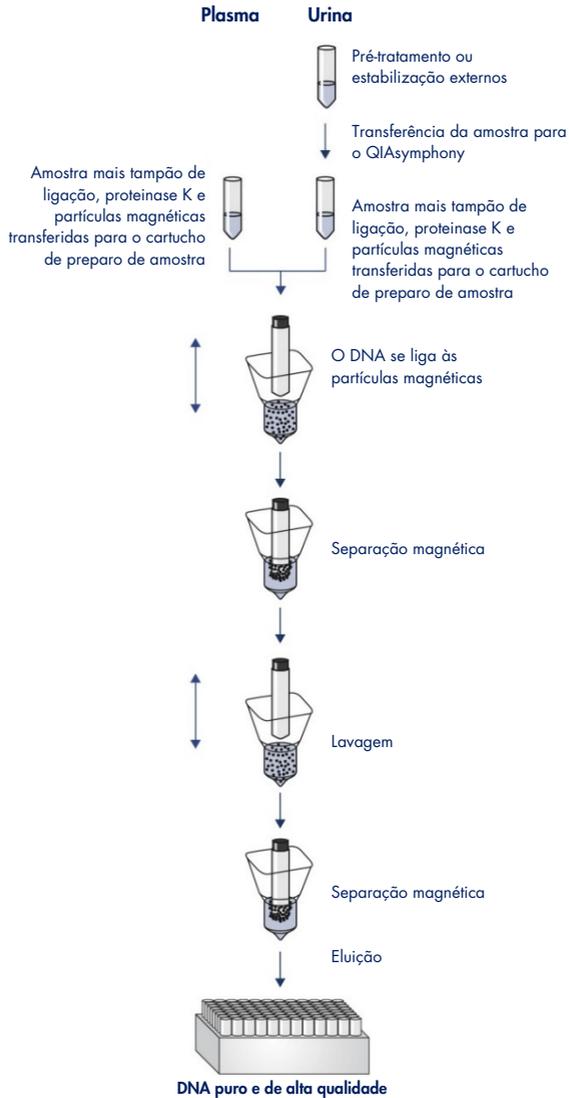


Figura 1. Diagrama esquemático do princípio do QIASymphony SP. O QIASymphony SP processa uma amostra que contém partículas magnéticas da seguinte maneira: uma haste magnética protegida por uma tampa cilíndrica é inserida em um poço que contém a amostra e atrai as partículas magnéticas. A tampa cilíndrica da haste magnética é posicionada acima de outro poço e as partículas magnéticas são liberadas. Estas etapas são repetidas várias vezes durante o processamento da amostra. O QIASymphony SP utiliza um cabeçote magnética que contém uma variedade de 24 hastas magnéticas e, portanto, pode processar até 24 amostras simultaneamente.

Procedimento do QIAasymphony DSP Circulating DNA



Resumo e explicação

Os ácidos nucleicos circulantes livres de células (ccfNAs) estão presentes no plasma ou na urina normalmente como fragmentos curtos, <1000 bp (DNA) e <1000 nt (RNA). A concentração de ccfNAs em fluidos biológicos, como plasma ou urina, é geralmente baixa e varia consideravelmente entre indivíduos. Para ccfNA, a concentração pode variar de 1 a 100 ng/mL. O sistema QIASymphony DSP Circulating DNA é um sistema in vitro pronto para uso criado para a purificação qualitativa de DNA livre circulante (ccfDNA) de plasma humano e urina humana usando o instrumento QIASymphony SP.

O QIASymphony DSP Circulating DNA Kit fornece reagentes para a purificação totalmente automatizada e simultânea de ccfDNA humano do plasma e urina humanos. Não foi estabelecida uma característica de desempenho para cada tubo de coleta de sangue; o usuário deve validá-la. A tecnologia de partículas magnéticas permite a purificação de ácidos nucleicos de alta qualidade isentos de proteínas, nucleases e outras impurezas. O ccfDNA purificado é compatível com uma grande variedade de aplicações a jusante. O QIASymphony SP executa todas as etapas do processo de purificação. Em uma única execução, são processadas até 96 amostras em lotes de 24. As amostras de urina podem exigir pré-tratamento manual de amostra.

Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit

(192)

Nº de referência

937556

Número de reações

192 (volume de amostra de 2 mL e 4 mL)

384 (volume de amostra de 1 mL)

Abreviaturas	Identificação	Quantidade	Ingredientes ativos	Concentração [%]*
RC	Reagent cartridge (Cartucho de reagentes) [†] REAG CART	2	Detergente não iônico Partícula magnética por troca de ânions NaOH Etanol	≥0,5 a <10 [w/w] n/a ≥0,05 a <0,1 [w/w] ≥70 a <90 [v/v]
PROTK PROTK	QIAGEN Proteinase K (Proteinase K QIAGEN)	6 x 10 mL	Proteinase K	≥1 a <3 % [w/w]
PL	Piercing lid (Tampa perfurante)	2	n/a	n/a
RSS	Reuse Seal Set (Conjunto de vedação reutilizável) [‡]	2	n/a	n/a
	Instruções de uso (Manual)	1	n/a	n/a

* Concentração máxima em poço único.

[†] Contém azida de sódio como conservante.

[‡] Um Reuse Seal Set contém 8 tiras de vedação reutilizáveis.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre use um jaleco apropriado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (Safety Data sheets, SDSs) relevantes disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

Reagentes adicionais

- Buffer ATL (para pré-tratamento de amostras de urina, n° de ref. 939016)
 - Tampão fosfato-salino (PBS, pode ser necessário para preencher volumes de amostra)
- Para obter mais informações necessárias para o pré-tratamento e estabilização de amostras de urina, consulte a ficha de protocolo disponível na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Consumíveis

- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (n° de ref. 997002)
- 8-Rod Covers (n° de ref. 997004)
- Filter-Tips, 200 e 1500 µl (n° de ref. 990332 e 997024)
- Tubos de amostra. Para obter informações sobre os formatos compatíveis de tubos primários e secundários, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.
- Tubos ou placas de eluição. Para obter informações sobre os formatos compatíveis de tubo e placa de eluição, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Equipamento*

- QIAasymphony SP (n° de ref. 9001297)
- Agitador tipo vórtex

Protocolo e materiais de laboratório

Ao lado do manual, as instruções de uso consistem na folha de protocolo, lista de materiais de laboratório e características de desempenho disponíveis na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

* Antes do uso, certifique-se de que os instrumentos tenham sido verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

Avisos e precauções

Esteja ciente de que poderá ser necessário consultar seus regulamentos locais para relatar incidentes graves que tenham ocorrido com o dispositivo ao fabricante e/ou seu representante autorizado e à autoridade regulatória na qual o usuário e/ou o paciente estão estabelecidos.

Para uso em diagnóstico in vitro.

Leia atentamente todas as instruções antes de utilizar o kit.

Esteja ciente dos seguintes riscos restantes:

- Ao usar tubos secundários, certifique-se de que os IDs das amostras não estejam misturados durante a transferência de ID da amostra do tubo primário para o secundário.
- Os IDs das amostras também podem ser inseridos manualmente (para mais detalhes, consulte o *Manual do usuário do QIASymphony SP*). Se os dados de ID incorretos forem inseridos manualmente, poderá ocorrer uma correlação incorreta entre a amostra e o paciente.

Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre use um jaleco apropriado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas. Elas estão disponíveis online em formato PDF compacto e conveniente em www.qiagen.com/safety, onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a SDS para cada kit e para componente do kit QIAGEN.

- Todos os produtos químicos e materiais biológicos são potencialmente perigosos. Os espécimes e as amostras são potencialmente infecciosos e devem ser tratados como materiais com risco biológico.
- Descarte os resíduos das amostras e dos ensaios de acordo com os procedimentos de segurança locais.

AVISO

Risco de lesões corporais



Não adicione água sanitária ou soluções ácidas diretamente nos resíduos do preparo de amostras.

Os tampões no cartucho de reagentes contêm azida de sódio. Se houver derramamento do líquido dos tampões do kit, limpe com detergente de laboratório adequado e água. Se o líquido derramado tiver agentes potencialmente infecciosos, limpe primeiro a área afetada com detergente de laboratório e água e, em seguida, com hipoclorito de sódio a 1% (v/v).

Espécimes e amostras são potencialmente infecciosos. Descarte os resíduos das amostras e dos ensaios de acordo com os procedimentos de segurança locais.

Informações de emergência

CHEMTREC

EUA e Canadá 1-800-424-9300

Fora dos EUA e do Canadá +1 703-527-3887

Precauções

As advertências e recomendações de precaução abaixo aplicam-se aos componentes do QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

MBS3

Contém: Azida de sódio. Aviso! Pode ser nocivo se ingerido. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Entre em contato com um CENTRO DE CONTROLE DE INTOXICAÇÕES E ENVENENAMENTOS ou um médico se não se sentir bem.

Proteinase K



Contém: proteinase K. Perigo! Causa irritação leve da pele. Se inalado, pode causar sintomas de asma ou alergia ou dificuldades respiratórias. Evite respirar névoa ou vapores. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Use proteção respiratória. EM CASO DE exposição ou suspeita de exposição: Entre em contato com um CENTRO DE ENVENENAMENTO ou médico. Leve a pessoa para um local ao ar livre e deixe-a confortável para respirar.

QSW9



Contém: etanol. Perigo! Líquido e vapor altamente inflamáveis. Causa irritação grave nos olhos. Mantenha distância de calor/faíscas/chamas abertas/superfícies quentes. Não fume. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Armazene em local bem ventilado. Mantenha resfriado. Descarte o conteúdo/recipiente em um local de descarte de resíduos aprovado.

Descarte

O resíduo contém amostras e reagentes. Esse resíduo pode conter material nocivo ou infeccioso e deve ser descartado corretamente. Consulte os regulamentos de segurança locais para ver quais são os procedimentos de descarte adequados.

Descarte como resíduo nocivo em conformidade com os regulamentos locais e nacionais. Isso também se aplica aos produtos não usados.

Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas. Elas estão disponíveis online em formato PDF no site www.qiagen.com/safety onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a ficha SDS para cada kit QIAGEN e componente do kit.

Armazenamento e manuseio de reagentes

O QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit deve ser armazenado em posição vertical à temperatura ambiente (15–25 °C). As partículas magnéticas nos cartuchos de reagentes permanecem ativas quando armazenadas a esta temperatura.

O QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit contém solução de proteinase K pronta para uso que pode ser armazenada à temperatura ambiente.

Nota: A etiqueta na caixa do QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit mostra o prazo de validade do kit. O arquivo de resultados documenta os prazos de validade apenas para o cartucho de reagentes.

Não use o QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit com prazo de validade vencido.

Estabilidade em uso

Os cartuchos de reagentes parcialmente usados podem ser armazenados por um máximo de 4 semanas, em posição vertical à temperatura ambiente (15–25 °C), permitindo assim a reutilização econômica dos reagentes e um processamento de amostras mais flexível. Se um cartucho de reagentes estiver parcialmente usado, substitua a tampa do reservatório que contém as partículas magnéticas e vede o cartucho de reagentes com as tiras de vedação reutilizáveis (RSS) fornecidas imediatamente após o fim da execução do protocolo para evitar a evaporação.

Para evitar a evaporação do reagente, o cartucho de reagentes deve ficar aberto por um máximo de 15 horas (incluindo os tempos de execução) a uma temperatura ambiente máxima de 32 °C. O armazenamento incorreto dos componentes do kit pode causar o envelhecimento dos tampões.

Os lotes em execução com baixo número de amostras (<24) aumentarão o tempo em que o cartucho de reagentes (RC) fica aberto e os volumes de tampão necessários, reduzindo potencialmente o número total de preparos de amostras possível por cartucho.

Evite a exposição dos cartuchos de reagentes à luz UV (por ex., usada para descontaminação), porque tal exposição pode acelerar o envelhecimento dos cartuchos de reagentes e dos tampões.

Coleta, armazenamento e manuseio de espécimes

Para obter mais informações sobre o procedimento automatizado (incluindo informações sobre os tubos de amostra que podem ser utilizados com protocolos específicos), armazenamento de amostras, manuseio e pré-tratamentos específicos de amostras, consulte a respectiva ficha de protocolo e a lista de materiais de laboratório disponíveis na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Procedimento

Purificação automatizada no QIASymphony SP

O QIASymphony SP facilita e torna mais prático o preparo automatizado de amostras. Amostras, reagentes, consumíveis e eluatos são separados em gavetas diferentes. Basta carregar as amostras e os reagentes fornecidos em cartuchos especiais e os consumíveis previamente inseridos no rack na respectiva gaveta antes de iniciar a execução. Inicie o protocolo e remova o DNA purificado da gaveta “Eluate” (Eluato) após o processamento. Consulte os manuais do usuário fornecidos com o instrumento para obter as instruções de operação.

Nota: A manutenção opcional não é obrigatória para o funcionamento do instrumento, mas é fortemente recomendada para reduzir o risco de contaminação.

A variedade disponível de protocolos encontra-se em contínua expansão e é possível fazer o download gratuito de mais protocolos QIAGEN em www.qiagen.com na guia Recursos dos kits individuais.

Carregamento dos cartuchos de reagentes na gaveta “Reagents and Consumables” (Reagentes e consumíveis)

Os reagentes para a purificação de DNA estão contidos em um inovador cartucho de reagentes (Figura 2, na página 19). Cada reservatório do cartucho de reagentes contém um determinado reagente, como partículas magnéticas, tampão de ligação, tampão de lavagem ou tampão de eluição. Os cartuchos de reagentes parcialmente usados podem ser fechados com tiras de vedação reutilizáveis para serem usados posteriormente, o que evita a criação de resíduos devido a restos de reagentes no fim do procedimento de purificação.

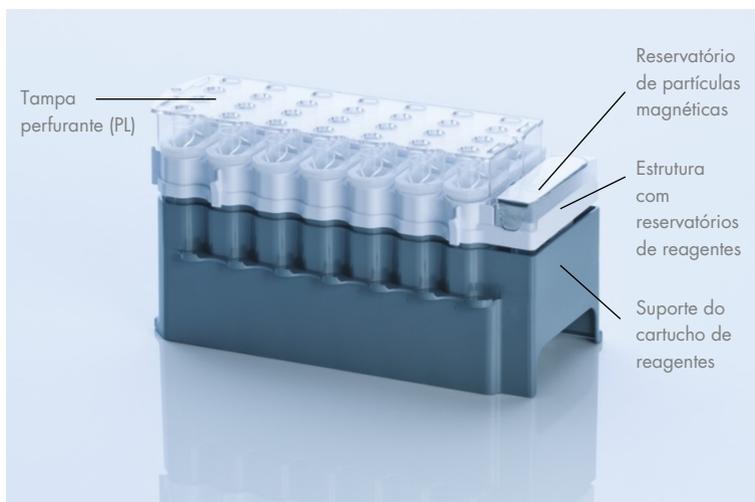


Figura 2. Cartucho de reagentes do QIAasymphony. O cartucho de reagentes contém todos os reagentes necessários para a execução do protocolo.

Antes de iniciar o procedimento, verifique se todas as partículas magnéticas estão completamente ressuspensas. Remova o reservatório de partículas magnéticas da armação do cartucho de reagentes, agite-o em vórtex vigorosamente por, pelo menos, 3 minutos e, em seguida, coloque-o novamente na armação do cartucho de reagentes antes da primeira utilização.

Nota: As partículas magnéticas podem mudar de cor. Isto não influencia o desempenho.

Coloque o cartucho de reagentes no suporte do cartucho de reagentes. Antes de usar um cartucho de reagentes pela primeira vez, coloque a tampa perfurante (PL) no topo do cartucho de reagentes (Figura 2, acima).

Nota: A tampa perfurante é afiada. Cuidado ao colocá-la no cartucho de reagentes. Coloque a tampa perfurante na orientação correta no cartucho de reagentes.

Após a retirada da tampa do reservatório de partícula magnética, o cartucho de reagentes é subsequentemente carregado na gaveta “Reagents and Consumables” (Reagentes e consumíveis).

Os cartuchos de reagentes parcialmente usados podem ser armazenados até seu uso ser necessário novamente (consulte “Armazenamento e manuseio de reagentes”, na página 15).

Nota: A proteinase K deve ser adicionada de acordo com as informações fornecidas na ficha de protocolo na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Nota: Certifique-se de que os cartuchos de reagentes, reservatórios de partículas magnéticas e frascos de proteinase K não sejam trocados entre os diferentes lotes de kit.

Carregamento de materiais plásticos na gaveta “Reagents and Consumables” (Reagentes e consumíveis)

Os cartuchos de preparo de amostras, 8-Rod Covers (ambos previamente inseridos no rack em caixas unitárias) e Filter-Tips descartáveis (ponteiras de 200 µl fornecidas em racks azuis e ponteiras de 1500 µl fornecidas em racks pretos) são carregados na gaveta “Reagents and Consumables” (Reagentes e consumíveis).

Nota: Verifique se as tampas das caixas unitárias foram retiradas antes de carregar as caixas unitárias na gaveta “Reagents and Consumables” (Reagentes e consumíveis).

Nota: As ponteiras têm filtros que ajudam a evitar a contaminação cruzada.

As fendas do rack para ponteiras na mesa de trabalho QIASymphony SP podem ser preenchidas com qualquer tipo de rack para ponteiras. O QIASymphony SP identificará o tipo de ponteira carregado durante a inventariação.

Nota: Não preencha novamente os racks para ponteiras ou as caixas unitárias para cartuchos de preparo de amostras ou tampas de 8 hastes antes de iniciar outra execução do protocolo. O QIASymphony SP pode utilizar racks para ponteiras e caixas unitárias parcialmente usados.

Para saber quais são os consumíveis necessários, consulte a respectiva ficha de protocolo disponível na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com. Para obter informações sobre o pedido de materiais plásticos, consulte a página 37.

Carregamento da gaveta “Waste” (Resíduos)

Os cartuchos de preparo de amostras e as 8-Rod Covers usados durante uma execução são novamente colocados no rack em caixas unitárias vazias na gaveta “Waste” (Resíduos). Verifique se a gaveta “Waste” (Resíduos) contém caixas unitárias vazias suficientes para os resíduos plásticos gerados durante a execução do protocolo.

Nota: Verifique se as tampas das caixas unitárias foram retiradas antes de carregar as caixas unitárias na gaveta “Waste” (Resíduos). Se estiver usando caixas de 8-Rod Covers para coletar 8-Rod Covers e cartuchos de preparo de amostras usados, certifique-se de que o distanciador de caixas tenha sido removido.

Coloque um saco para Filter-Tips usadas na parte frontal da gaveta “Waste” (Resíduos).

Nota: O sistema não verifica se há um saco para ponteiras usadas. Certifique-se de que o saco para ponteiras usadas esteja bem preso antes de iniciar uma execução de protocolo. Para mais informações, consulte os manuais do usuário fornecidos com o instrumento. Para evitar um congestionamento de ponteiras, esvazie o saco para ponteiras após terem sido processadas no máximo 96 amostras.

Um recipiente de resíduos coleta os resíduos líquidos produzidos durante o procedimento de purificação. A gaveta "Waste" (Resíduos) só pode ser fechada se o recipiente de resíduos estiver no devido local. Elimine os resíduos líquidos de acordo com os regulamentos de segurança e ambientais locais. Não esterilize com autoclave o frasco cheio de resíduos. Esvazie o frasco de resíduos o mais tardar após terem sido processadas no máximo 96 amostras.

Carregamento da gaveta "Eluate" (Eluato)

Carregue o rack de eluição necessário na gaveta "Eluate" (Eluato). Como o armazenamento a longo prazo de eluatos na gaveta "Eluate" (Eluato) pode provocar a evaporação ou condensação, deve-se usar a posição de resfriamento. Somente use o "Elution slot 1" (fenda de eluição 1) com o adaptador de resfriamento correspondente.

Inventariação

Antes de iniciar uma execução, o instrumento verifica se foram carregados nas respectivas gavetas os consumíveis suficientes para o(s) lote(s) em fila de espera.

Preparo de material de amostra

Os QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit foram projetados para a purificação automatizada de DNA livre circulante do plasma humano e urina humana.

Evite a formação de espuma nas amostras ou sobre elas. A presença de espuma nas amostras pode causar a pipetagem do volume incorreto de amostra. 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.

Para obter mais informações sobre o procedimento automatizado (incluindo informações sobre os tubos de amostra que podem ser utilizados com protocolos específicos) e pré-tratamentos específicos de amostras, consulte a respectiva ficha de protocolo e lista de materiais de laboratório disponíveis na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Armazenamento do DNA

Nota: A estabilidade do eluato depende altamente de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Elas foram estabelecidas para o QS DSP Circulating DNA Kit em conjunto com as aplicações a jusante exemplares. O usuário é responsável por consultar as instruções de uso da aplicação a jusante específica usada em seu laboratório e/ou por validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

Após o preparo de amostras, os eluatos podem ser armazenados a 2–8 °C por até 1 mês e a -20 °C ou -80 °C por até dois meses. Os eluatos congelados não devem ser descongelados mais de três vezes.

Protocolo: Purificação de DNA livre circulante

Visão geral do protocolo

Tabela 1. Visão geral do protocolo

Amostra	Volume de amostra (µl)	Volume de eluição (µl)	Protocolo QIASymphony SP
Plasma, urina	1000	60	circDNA_1000_DSP
Plasma, urina	2000	60	circDNA_2000_DSP
Plasma, urina	4000	60	circDNA_4000_DSP

As informações detalhadas são fornecidas nas fichas de protocolo e na lista de materiais de laboratório disponíveis na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

O protocolo a seguir é um protocolo geral para uso com os QIASymphony DSP Kits. As informações detalhadas sobre cada protocolo, incluindo volumes e tubos, são fornecidas nas fichas de protocolo disponíveis na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Pontos importantes antes de começar

- Esteja familiarizado com o funcionamento do QIASymphony SP. Consulte os manuais do usuário fornecidos com o instrumento para obter as instruções de operação.
- A manutenção opcional não é obrigatória para o funcionamento do instrumento, mas é fortemente recomendada para reduzir o risco de contaminação.
- Antes de iniciar o procedimento, leia “Descrição e princípio”, na página 5.
- Esteja familiarizado com a ficha de protocolo relativa ao procedimento que deseja utilizar. (As fichas de protocolo estão disponíveis na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com).
- Evite agitar vigorosamente o cartucho de reagentes para não gerar espuma, o que pode causar problemas de detecção do nível de líquido.

Antes de iniciar um pré-tratamento que exige Buffer ATL, verifique se há formação de precipitado no Buffer ATL. Se necessário, dissolva o precipitado aquecendo a 70 °C, agitando-o suavemente em banho-maria. Aspire as bolhas presentes na superfície do Buffer ATL.

○ que fazer antes de começar

- Antes de iniciar o procedimento, verifique se todas as partículas magnéticas estão completamente ressuspendas. Agite vigorosamente em vórtex o reservatório que contém partículas magnéticas por, pelo menos, 3 minutos antes da primeira utilização.
- Verifique se a tampa perfurante está inserida no cartucho de reagentes e se a tampa do reservatório de partículas magnéticas foi removida ou, caso esteja utilizando um cartucho de reagentes parcialmente usado, verifique se as tiras de vedação reutilizáveis foram removidas.
- A proteinase K não está incluída no cartucho de reagentes, mas deve ser fornecida pelo usuário (gaveta de amostra, fenda A, posição 1, 2 e/ou 3). Certifique-se de que haja disponível o volume correto de proteinase K. (Para obter informações detalhadas, consulte a ficha de protocolo disponível na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com).
- Se as amostras tiverem códigos de barras, oriente-as no porta-tubos em uma posição na qual os códigos de barras fiquem virados para o respectivo leitor no lado esquerdo do QIASymphony SP.
- Para obter informações sobre os tubos de amostra compatíveis com um determinado protocolo, consulte a respectiva lista de materiais de laboratório disponível na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.
- Para obter informações sobre os volumes mínimos de amostras para tubos secundários, consulte a respectiva lista de materiais de laboratório disponível na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Procedimento

1. Feche todas as gavetas e a tampa.
2. Ligue o QIASymphony SP e aguarde até a tela **Sample Preparation** (Preparo de amostras) ser exibida e o procedimento de inicialização terminar.

O interruptor de alimentação está localizado no canto inferior esquerdo do QIASymphony SP.
3. Faça logon no instrumento.
4. Carregue o rack de eluição necessário na gaveta "Eluate" (Eluato).

Não carregue uma placa de 96 poços na "Elution slot 4" (Fenda de eluição 4). Use o "Elution slot 1" (Fenda de eluição 1) com o adaptador de resfriamento correspondente.

Ao usar uma placa de 96 poços, verifique se a placa está na posição correta, uma vez que o posicionamento incorreto pode causar uma mistura de amostras na análise a jusante.

Ao usar o rack de Elution Microtubes CL, remova o fundo do rack rodando-o até que esta parte se solte.
5. Certifique-se de que a gaveta "Waste" (Resíduos) esteja devidamente preparada e faça uma inventariação da gaveta "Waste" (Resíduos), incluindo a calha de ponteiros e os resíduos líquidos. Substitua o saco para ponteiros usadas, se necessário.
6. Carregue os cartuchos de reagentes e os consumíveis necessários na gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis).
7. Faça uma inventariação da gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis).
8. Coloque as amostras no respectivo porta-amostras e carregue-as na gaveta "Sample" (Amostra).
9. Utilizando a tela sensível ao toque, insira as informações exigidas para cada lote de amostras e proteinase K a ser processado.

Insira as seguintes informações:

- Informações de amostras (dependendo dos tipos de rack de amostra utilizados)
- Protocolo a ser executado (Assay Control Set [Conjunto de controle de ensaio])
- Volume de eluição e posição de saída

Após inserir as informações sobre o lote, o status muda de LOADED (Carregado) para QUEUED (Em fila de espera). Assim que um lote entra em fila de espera, o botão Run (Executar) é exibido.

10. Coloque a proteinase K no respectivo porta-amostras na posição 1, 2 e/ou 3 e carregue-a na fenda A da gaveta "Sample" (Amostra).
11. Defina a proteinase K pressionando o botão IC.
12. Pressione o botão Run (Executar) para iniciar o procedimento de purificação.

Todos os passos de processamento são totalmente automatizados. No final da execução do protocolo, o status do lote muda de RUNNING (Em execução) para COMPLETED (Concluído).

13. Retire o rack de eluição contendo os ácidos nucleicos purificados da gaveta "Eluate" (Eluato).
14. O DNA está pronto para ser usado ou pode ser armazenado a 2–8 °C, -20 °C ou -80 °C.

Recomenda-se remover a placa de eluato da gaveta "Eluate" (Eluato) imediatamente após o término da execução. Dependendo da temperatura e umidade, as placas de eluição deixadas no QIASymphony SP após o término da execução podem apresentar condensação ou evaporação.

Geralmente, as partículas magnéticas não são transportadas para os eluatos. Se isto ocorrer, as partículas magnéticas nos eluatos não afetarão a maioria das aplicações a jusante.

Se as partículas magnéticas precisarem ser removidas antes de realizar aplicações a jusante, os tubos ou placas que contêm eluatos devem ser primeiramente colocados em um ímã adequado e os eluatos transferidos devem ser colocados em um tubo limpo (consulte "Guia de solução de problemas", na página 31).

São criados arquivos de resultados para cada placa de eluição.

15. Se um cartucho de reagentes estiver parcialmente usado, vede-o com as tiras de vedação reutilizáveis fornecidas após o fim da execução do protocolo para evitar a evaporação.

Nota: Para obter mais informações sobre o armazenamento de cartuchos de reagentes parcialmente usados, consulte “Armazenamento e manuseio de reagentes”, na página 15.

16. Descarte os tubos de amostras usados e resíduos de acordo com os regulamentos de segurança locais.

Consulte “Avisos e precauções”, na página 11, para obter informações de segurança.

17. Limpe o QIASymphony SP.

Siga as instruções de manutenção contidas nos manuais do usuário fornecidos com o instrumento. Limpe regularmente os protetores das ponteiros para minimizar o risco de contaminação cruzada.

18. Feche as gavetas do instrumento e desligue o QIASymphony SP.

Controle de qualidade

De acordo com o Sistema de Gerenciamento de Qualidade da QIAGEN, certificado pelo ISO, cada lote do QIA Symphony DSP Circulating DNA Kit é testado em relação a especificações pré-determinadas para assegurar a qualidade consistente do produto.

Limitações

O desempenho do sistema foi estabelecido em estudos de avaliação de desempenho que purificaram o ccfDNA do plasma humano e urina humana.

O usuário é responsável por validar o desempenho do sistema em quaisquer procedimentos utilizados em seu laboratório que não estejam abrangidos pelos estudos de avaliação de desempenho da QIAGEN.

Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados do diagnóstico, devem ser usados os controles adequados para aplicações a jusante. Para uma validação mais detalhada, recomendam-se as diretrizes da Conferência Internacional de Harmonização (International Conference on Harmonisation, ICH) de Requisitos Técnicos descritas no *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology* (Validação de Procedimentos Analíticos: Texto e Metodologia).

Quaisquer resultados de diagnóstico gerados devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos ou laboratoriais.

Características de desempenho

As características de desempenho aplicáveis estão disponíveis na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Guia de solução de problemas

Este guia de solução de problemas pode ser útil para resolver qualquer problema que possa surgir. Para obter mais informações, consulte também a página de perguntas frequentes (Frequently Asked Questions, FAQ) no nosso Centro de Suporte Técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Os cientistas da Assistência Técnica da QIAGEN estão sempre prontos a responder quaisquer perguntas que você possa ter sobre as informações e/ou os protocolos neste manual ou sobre as tecnologias de amostragem e ensaio (para obter informações de contato, 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 protocolo, consulte os manuais do usuário fornecidos com o instrumento.
--	--

Precipitados no reservatório de reagentes do cartucho aberto do kit QIASymphony DSP

- | | |
|---|---|
| a) Evaporação do tampão | Evaporação excessiva pode levar ao aumento da concentração de sal nos tampões. Descarte o cartucho de reagentes. Vede os reservatórios do tampão de um cartucho de reagentes parcialmente usado com as tiras de vedação reutilizáveis quando não estiverem sendo utilizados para purificação. |
| b) Armazenamento do cartucho de reagentes | O armazenamento do cartucho de reagentes a uma temperatura inferior a 15 °C pode causar a formação de precipitados. |
-

Baixo índice de rendimento de DNA

- | | |
|--|---|
| 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) Obstrução da ponteira de pipeta devido a material insolúvel | O material insolúvel não foi retirado da amostra antes do início do procedimento de purificação no QIASymphony.
Se necessário, utilize procedimentos de pré-tratamento conforme descrito na respectiva ficha de protocolo disponível na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com . |
| c) O material da amostra contém baixa concentração de ccfDNA. | Devido a quantidades muito baixas de ccfDNA no material de amostra, talvez não seja possível detectar a concentração de DNA dependendo do método de quantificação utilizado.
Recomenda-se o uso de qPCR sensível para verificar a concentração de DNA nos eluatos. |

Comentários e sugestões

- | | |
|---|---|
| d) Refechamento incompleto do cartucho de reagentes | O contato com o ar circundante pode levar a uma estabilidade reduzida dos tampões, gerando uma eficiência reduzida da extração de ccfDNA com um cartucho de reagentes parcialmente usado. Vede cuidadosamente os reservatórios do tampão de um cartucho de reagentes parcialmente usado com as tiras de vedação reutilizáveis quando não estiverem sendo utilizados para purificação. |
| e) Rápida degradação de ccfDNA em amostra de urina não estabilizada | Devido à rápida degradação de ccfDNA em amostras de urina não estabilizada após a coleta da amostra, é possível detectar nenhuma/baixa concentração de DNA nos eluatos. Recomenda-se estabilizar a amostra de urina conforme descrito na respectiva ficha de protocolo.
Alternativamente, imediatamente após a coleta e centrifugação, submeta as amostras de urina ao pré-tratamento com ATL e subsequente extração de DNA no instrumento conforme descrito na respectiva ficha de protocolo. |

Transferência incompleta ou nenhuma transferência de amostra

- | | |
|--|--|
| a) Volume incorreto de amostra carregado | <p>circDNA_1000_DSP: Se forem carregados menos de 1,2 mL (tubo Sarstedt) e 1,4 mL (tubo BD) de volume de amostra, há um risco maior de relatar o código de erro 140043 (permitir menos amostra) a partir da amostra. Se forem carregados menos de 0,7 mL (tubo Sarstedt) e 0,9 mL (tubo BD) de volume de amostra, há um risco maior de um alerta "inválido" na amostra e de não haver a transferência da amostra.</p> <p>circDNA_2000_DSP: Se forem carregados menos de 2,4 mL de volume de amostra, há um risco maior de relatar o código de erro 140043 (permitir menos amostra) a partir da amostra. Se forem carregados menos de 1,4 mL de volume de amostra, há um risco maior de um alerta "inválido" na amostra e de não haver a transferência da amostra.</p> <p>circDNA_4000_DSP: Se forem carregados menos de 4,5 mL de volume de amostra, há um risco maior de relatar o código de erro 140043 (permitir menos amostra) a partir da amostra. Se forem carregados menos de 3,6 mL de volume de amostra, há um risco maior de um alerta "inválido" na amostra e de não haver a transferência da amostra.</p> <p>Carregue o volume correto de amostra conforme descrito na respectiva lista de materiais de laboratório. Se houver amostra insuficiente, antes de carregá-la adicione PBS à amostra até o volume de amostra exigido.</p> |
| b) Bolhas e/ou espuma no tubo de amostra | Bolhas ou espuma na amostra e/ou no tubo de inserção de amostra podem resultar na falsa detecção do nível de líquido e na subsequente transferência incompleta da amostra. Remova as bolhas do tubo de amostra. |

Pellet marrom visível no eluato

Carryover de esfera no eluato

Se ocorrer um carryover da esfera, as partículas magnéticas nos eluatos não afetarão a maioria das aplicações a jusante.

Se for preciso remover as partículas magnéticas, aplique o tubo que contém o DNA a um separador magnético adequado até as partículas magnéticas serem separadas.

Se não houver um separador magnético adequado, centrifugue o tubo que contém o DNA por 1 minuto à velocidade máxima em uma microcentrifuga para peletizar quaisquer partículas magnéticas restantes.

Símbolos

Os seguintes símbolos são exibidos nas instruções de uso ou na embalagem e no rótulo:

Símbolo	Definição do símbolo
 Σ <N>	Contém reagentes suficientes para <N> reações
	Data de validade
	Este produto atende aos requisitos do Regulamento (UE) 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de referência
	Número de lote
	Número do material (isto é, etiquetagem do componente)
	Componentes
	Contém
	Número
	Número global de item comercial
Rn	R representa a revisão das Instruções de uso e n representa o número de revisão

Símbolo

Definição do símbolo



Limites de temperatura



Fabricante



Consulte as instruções de uso



Aviso/cuidado



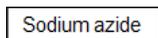
Proteinase K



Número de poços (isto é, poço do cartucho de reagentes)



Cartucho de reagentes



Azida de sódio



Etanol



Identificador único do dispositivo

Informações de contato

Para obter assistência técnica e mais informações, consulte o nosso Centro de Suporte Técnico no site www.qiagen.com/Support, ligue para 00800-22-44-6000 ou entre em contato com um dos Departamentos de Assistência Técnica da QIAGEN ou os distribuidores locais (consulte o verso do manual ou acesse www.qiagen.com).

Apêndice: Quantificação de DNA livre circulante

Devido a concentrações muito baixas de ccfDNA nos materiais de amostra, não se recomenda fazer a medição do DNA com um espectrofotômetro. Para determinar a concentração de DNA livre circulante, deve-se utilizar um ensaio de quantificação baseado em fluorescência sensível e preciso ou um ensaio de PCR.

Informações sobre pedidos

Produto	Conteúdo	Nº de ref.
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Inclui 2 cartuchos de reagentes e tubos de proteinase K e acessórios	937556
QIASymphony SP	Módulo de preparo de amostras QIASymphony, 1 ano de garantia em peças e mão de obra	9001297
Produtos relacionados		
Buffer ATL (4 x 50 mL)	4 x Buffer ATL de 50 mL para o pré-tratamento de amostras de urina	939016
Proteinase K (10 mL)	1 x frasco de 10 mL	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Suporte do cartucho de reagentes para uso com o QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 mL, v2, Qsym	Adaptador de resfriamento para tubos de 2 mL com tampa rosqueada. Para uso com a gaveta "Eluate" (Eluato) do QIASymphony	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Adaptador de resfriamento para racks EMT. Para uso com a gaveta "Eluate" (Eluato) do QIASymphony	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Adaptador de resfriamento para tubos Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock de 1,5 mL. Para uso com a gaveta "Eluate" (Eluato) do QIASymphony	9020731

Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartuchos de preparo de amostras de 8 poços para uso com o QIAAsymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	8-Rod Covers para uso com o QIAAsymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Filter-Tips descartáveis, no rack; (8 x 128). Para uso com o QIAcube® e o QIAAsymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µL (1024)	Filter-Tips descartáveis, no rack; (8 x 128). Para uso com o QIAAsymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Sacos para ponteiros usadas para uso com o QIAAsymphony SP	9013395
Reuse Seal Set (20)	Conjuntos de vedação reutilizáveis para a vedação de cartuchos de reagentes QIAAsymphony parcialmente usados	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Tubos de polipropileno não esterilizados (0,85 mL de capacidade máxima, menos de 0,7 mL de capacidade de armazenamento, 0,4 mL de capacidade de eluição); 2304 em racks de 96; inclui tiras de tampa	19588

Para obter informações de licenciamento atualizadas e isenções de responsabilidade específicas do produto, consulte as Instruções de uso do kit QIAGEN correspondente. As Instruções de uso do kit QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à assistência técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Histórico de revisões do documento

Revisão	Descrição
R1, junho de 2022	<p>Versão 2, Revisão 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Atualização para a versão 2 para conformidade com o IVDR• Atualização dos Materiais fornecidos (adição de ingredientes ativos)• Atualização de Avisos e precauções• Atualização de Armazenamento e manuseio de reagentes• Adição da seção Descarte <p>Atualização do Guia de solução de problemas (adição de carryover de esfera)</p>
R2, janeiro de 2023	<p>Versão 2, Revisão 2</p> <ul style="list-style-type: none">• Atualização para adicionar BioScript para volume de amostra de 1 mL (circDNA_1000_DSP)• Atualização do Guia de solução de problemas

Esta página foi deixada em branco intencionalmente

Esta página foi deixada em branco intencionalmente

Contrato de licença limitada para o QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit

O uso deste produto implica a aceitação, por parte de qualquer comprador ou usuário do produto, dos seguintes termos:

1. O produto deverá ser usado unicamente em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e com estas Instruções de uso e recorrendo ao uso exclusivo de componentes contidos no painel. Nos termos dos direitos de propriedade intelectual, a QIAGEN não concede nenhuma licença para usar ou incorporar os componentes deste painel a quaisquer componentes não incluídos nele, salvo conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, nestas Instruções de uso e em 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 infrinjam os direitos de terceiros.
2. Com exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este painel e/ou o seu uso não infrinja os direitos de terceiros.
3. Este painel e seus componentes estão licenciados para uso único e não podem ser reutilizados, reconstruídos ou revendidos.
4. A QIAGEN renuncia especificamente a quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, à exceção das expressamente indicadas.
5. O comprador e o usuário do painel concordam em não realizar nem permitir que outra pessoa realize qualquer etapa que possa levar a ou facilitar qualquer um dos atos proibidos acima. A QIAGEN poderá fazer cumprir as proibições deste Contrato de Licença Limitada em qualquer Tribunal e recuperará todos os seus custos de investigação e de Tribunal, incluindo honorários de advogados, em qualquer ação destinada a fazer cumprir este Contrato de Licença Limitada ou qualquer um de seus direitos de propriedade intelectual relativos ao painel e/ou seus componentes.

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

Marcas registradas: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], QIAsymphony[®], QIAcube[®] (QIAGEN Group); Eppendorf[®] (Eppendorf AG). Os nomes registrados, as marcas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser considerados protegidos pela lei.

Jan-2023 HB-3034-002 1 130675PTBR © 2023 QIAGEN. Todos os direitos reservados.

