

Julho de 2023

# Instruções de utilização do instrumento QIASymphony® SP (Folha de protocolo)

Para o PreAnalytiX QIASymphony PAXgene® Blood ccfDNA Kit e PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube

Protocolos PAXgene Blood ccfDNA IVD:

PAXcircDNA \_2400, PAXcircDNA \_4800, PAXcircDNA\_PrimaryTube\_2400 e PAXcircDNA\_PrimaryTube\_4000

Versão 1

IVD

Para utilização em diagnóstico in vitro



REF

768566



PreAnalytiX GmbH  
Garstligweg 8, 8634 Hombrechtikon, Suíça

EC

REP

R4

MAT

Marcas comerciais: PAXgene®, PreAnalytiX® (PreAnalytiX GmbH)  
QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group)  
BD™ (Becton Dickinson and Company)  
Corning®, Falcon® (Corning, Inc.)  
Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG)  
Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.)  
Starlab® (Starlab International GmbH).

PreAnalytiX GmbH, 8634 Hombrechtikon, CH.

HB-2866-S01-004 © 2023 PreAnalytiX GmbH. Salvo indicação em contrário, PreAnalytiX, o logótipo do PreAnalytiX e todas as outras marcas comerciais são propriedade da PreAnalytiX GmbH, Hombrechtikon, CH.

## Distribuidores da PreAnalytiX

Os produtos PreAnalytiX são fabricados e distribuídos pela QIAGEN e BD para a PreAnalytiX.

## Informações gerais

Para utilização em diagnóstico in vitro.

O QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit foi concebido para realizar o isolamento e a purificação automatizados de ADN de circulação livre de células (circulating cell free DNA, ccfDNA) de plasma gerado a partir de sangue total venoso humano colhido no PAXgene Blood ccfDNA Tube.

O procedimento de purificação está otimizado para utilização com plasma gerado a partir de sangue total venoso humano colhido nos PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Para obter instruções sobre o procedimento de colheita de sangue, consulte as instruções de utilização do PAXgene Blood ccfDNA Tube na página inicial do produto ([www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)).

Foram estabelecidos quatro protocolos diferentes para o isolamento automatizado de ADN de circulação livre de células (circulating cell free DNA, ccfDNA) de plasma gerado a partir de sangue total venoso humano colhido nos PAXgene Blood ccfDNA Tubes. Nas versões padrão, é possível selecionar volumes de entrada da amostra de 2,4 ou 4,8 ml de plasma. Além disso, os protocolos de manuseamento do tubo primário permitem a colocação direta do PAXgene Blood ccfDNA Tube no instrumento QIASymphony SP. Estão disponíveis protocolos de manuseamento do tubo primário para volumes de entrada da amostra de 2,4 ou 4,0 ml de plasma (consulte as tabelas nas páginas seguintes).

Cada volume de plasma utilizado para a extração de ADN de circulação livre de células (circulating cell free DNA, ccfDNA) requer o volume de entrada da amostra relevante, incluindo o volume morto e o script de protocolo relevante, conforme resumido na Tabela 1.

**Tabela 1. Visão geral do protocolo**

Material de amostra	Plasma humano gerado a partir de sangue total venoso colhido em PAXgene Blood ccfDNA Tubes			
Kit	QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)(192), n.º de cat. 768566			
Versão de software	Versão 5.0 ou posterior			
Configuração de software para utilização do IVD	Perfil predefinido 1			
Protocolos	Linha do protocolo	Volume de entrada da amostra (incluindo volume morto) (ml)	Volume de amostra utilizado para extração de ADN de circulação livre de células (circulating cell free DNA, ccfDNA) (ml)	(Assay Control_) Nome do protocolo
	Padrão	2,8 5,3	2,4 4,8	(ACS_) PAXcircDNA_2400 (ACS_) PAXcircDNA_4800
	Manuseamento do tubo primário	De acordo com a ferramenta de seleção	2,4 4,0	(ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_2400 (ACS_) PAXcircDNA PrimaryTube_4000

A preparação do plasma pode ser efetuada utilizando (A) o protocolo padrão de dupla centrifugação ou (B) através do manuseamento do tubo primário: processamento direto dos PAXgene Blood ccfDNA Tubes submetidos a uma única centrifugação no instrumento QIASymphony SP.

## A) Preparação do plasma a partir de sangue para protocolos padrão

1. Centrifugue o PAXgene Blood ccfDNA Tube à temperatura ambiente (15–25 °C) durante 15 minutos a 1600–3000× g utilizando uma centrífuga de cabeça oscilante equilibrada. Se for necessária travagem, recomenda-se a utilização de um nível médio de travagem e este deve ser validado para o seu fluxo de trabalho específico.

**Nota:** Para um melhor desempenho com amostras refrigeradas antes da centrifugação, volte a misturar a amostra invertendo-a três vezes e deixe que os tubos se aclimatizem à temperatura ambiente antes de os processar.

2. Pipete o plasma para um tubo de centrifuga com base cónica de 15 ml (não fornecido), certificando-se de que não interfere com a fração celular nucleada.
3. Centrifugue o tubo de centrifuga com base cónica de 15 ml durante 10 minutos à temperatura ambiente (15–25 °C) a 1600–3000 × g utilizando uma centrífuga equilibrada.

**Nota:** Não exceda a velocidade de centrifugação máxima recomendada pelo fabricante do tubo secundário.

4. Pipete o volume de plasma necessário (consulte a secção "Volume de amostra" na página 9) para um tubo com base redonda de 14 ml, 17 × 100 mm, em polistireno, certificando-se de que não interfere com o pellet de células sanguíneas residual, se presente.
5. Transfira o tubo com base redonda com a amostra de plasma para o transportador de tubos e coloque o transportador de tubos na gaveta de entrada da amostra do instrumento QIASymphony SP.

**Nota:** Para um rendimento máximo de ADN de circulação livre de células (circulating cell free DNA, ccfDNA), processe o máximo volume de plasma disponível.

**Nota:** Previna a formação de espuma nas amostras de plasma ou sobre as mesmas durante a pipetagem. Espuma ou bolhas de ar em amostras podem levar à pipetagem do volume de amostra errado.

**Nota:** Depois da transferência do plasma no tubo secundário, o ccfDNA permanece estável no plasma a 15–25 °C até 3 dias ou a 2–8 °C até 7 dias. Para armazenamento mais prolongado, recomendamos que as alíquotas sejam congeladas a –20 °C ou –80 °C.

**Nota:** Ao utilizar amostras de plasma previamente armazenadas (por exemplo, armazenadas a 2–8 °C ou congeladas a –20 ou –80 °C), estas devem ser aclimatizadas à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar a execução.

## B) Preparação do plasma a partir de sangue para manuseamento do tubo primário no instrumento QIASymphony SP

1. Centrifugue o PAXgene Blood ccfDNA Tube à temperatura ambiente (15–25 °C) durante 15 minutos a 3000 x g utilizando uma centrífuga de cabeça oscilante equilibrada. Se for necessária travagem, recomenda-se a utilização de um nível médio de travagem e este deve ser validado para o seu fluxo de trabalho específico.

**Nota:** Para um melhor desempenho com amostras refrigeradas antes da centrifugação, volte a misturar a amostra invertendo-a três vezes e deixe que os tubos se aclimatizem à temperatura ambiente antes de os processar.

2. Quantifique o volume de plasma em cada tubo após a remoção da cabeça da centrífuga, utilizando a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool fornecida como conteúdo de kit (Figura 1). Após a remoção do tubo da centrífuga, a seta verde-azulada na ferramenta fica alinhada com a interface plasma/células. As linhas azuis indicam se o nível de plasma é suficiente para o protocolo de manuseamento do tubo primário de 2,4 ou 4,0 ml. É necessária uma altura mínima de 2,3 cm da coluna de plasma para o protocolo de 2,4 ml e um mínimo de 3,4 cm para o protocolo de 4,0 ml.

Determine o protocolo ideal para processar os  
PAXgene Blood ccfDNA Tubes (CE-IVD)  
diretamente no instrumento QIASymphony SP

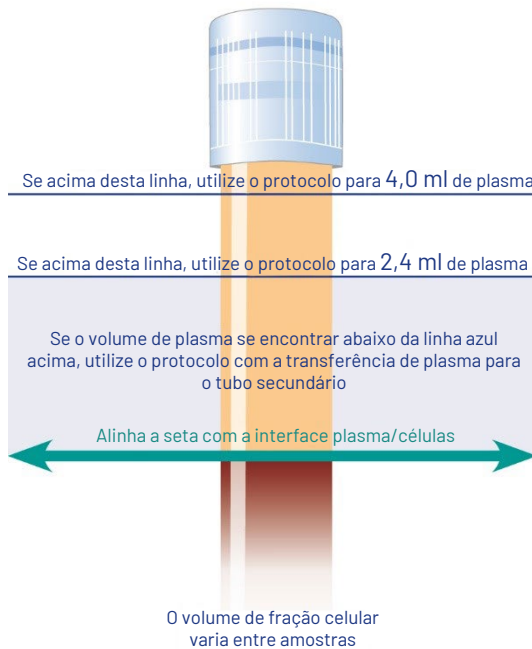


Figura 1. Determinação do volume de plasma utilizando a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (serve apenas para efeitos de ilustração, não imprima pois o tamanho real é diferente - não utilize com amostras).

**Nota:** Caso não tenha ocorrido uma clara separação do plasma e da fração celular ou caso as fases tenham sido acidentalmente misturadas após a remoção da centrifuga, a centrifugação deve ser repetida.

**Nota:** Verifique uma separação clara antes de colocar o tubo no instrumento.

3. Remova a Hemogard Closure Cap dos PAXgene Blood ccfDNA Tubes antes da colocação no instrumento QIASymphony SP para extração direta do ADN de circulação livre de células (ccfDNA).
4. Coloque os PAXgene Blood ccfDNA Tubes abertos contendo plasma suficiente no transportador de tubos e coloque o transportador de tubos na gaveta de entrada de amostras do instrumento QIASymphony SP.



## Volume de amostra

Para garantir que no fluxo de trabalho habitual são transferidas amostras de 2,4 ml (protocolo PAXcircDNA\_2400) e de 4,8 ml (protocolo PAXcircDNA\_4800) pelo instrumento, é necessário um volume morto de 0,4 e 0,5 ml respetivamente, o que significa que devem ser fornecidos no mínimo 2,8 e 5,3 ml de entrada de amostra. Caso estejam disponíveis volumes de plasma inferiores a 2,8 ou 5,3 ml, o **modo Less Sample** (Menos amostra), como parte integrante da função do protocolo, permite a transferência de volumes de plasma inferiores aos listados. Neste caso, o instrumento transfere menos amostra. A diferença do volume de plasma pipetado será registado no ficheiro de resultados. Além disso, as respetivas amostras são sinalizadas como **ambíguas** (código de erro 140043, **modo Enable Less Sample** [Permitir menos amostra]). Os volumes de entrada de plasma mínimos para ativar o **modo Less Sample** (Menos amostra) são 1,6 ml (protocolo PAXcircDNA 2400) e 4,1 ml (protocolo PAXcircDNA 4800). Se for fornecido um volume inferior de amostra, as amostras não serão processadas e serão sinalizadas como **inválidas**. Para o fluxo de trabalho de manuseamento do tubo primário, é assegurado o volume de amostra adequado utilizando a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool fornecida como conteúdo de um kit e descrita na secção "B) Preparação do plasma a partir de sangue para manuseamento do tubo primário no instrumento QIASymphony SP" na página 6.

## Gaveta "Sample" (Amostra)

Tabela 2. Informações para a configuração da gaveta "Sample" (amostra).\*

Tipo de amostra	Plasma humano gerado a partir de sangue total venoso colhido nos PAXgene Blood ccfDNA Tubes
Volume de entrada de amostra (incluindo volume morto)	2,8 ml (PAXcircDNA_2400); 5,3 ml (PAXcircDNA_4800) Consulte a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_2400) Consulte a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (PAXcircDNA_PrimaryTube_4000)
Tubos de amostra primários	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD) 16 × 100 mm, (BD™, n.º de cat. 768165)
Tubos de amostra secundários	Tubos com base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm, em polistireno (Corning®, n.º de cat. 352051)
Introdutores	n/a
Outro	Proteinase K necessária em tubos com base redonda de 14 ml, 17 × 100 mm, em polistireno (Corning, n.º de cat. 352051); utilize apenas as posições 1 e 2 do transportador de tubos (para a ranhura A)

\* Consulte também a lista de materiais de laboratório disponível no separador Product Resources (Recursos do produto) em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou no separador Resources (Recursos) em [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

n/a, não aplicável.

## Tubos de amostras para o transportador de tubos

Tabela 3. Informações para a configuração do transportador de tubos\*

Nome no ecrã tátil	Fornecedor	Material	Exemplo de n.º de catálogo	Introdutor	PAXcircDNA_2400	PAXcircDNA_4800	PAXcircDNA_PrimaryTube_2400	PAXcircDNA_PrimaryTube_4000
BD #352051 FalconPP 17 × 100	Corning <sup>†</sup>	Tubo Falcon® com base redonda de 14 ml, 17 × 100 mm, em poliestireno	352051	Não é necessário introdutor	2,8 ml <sup>‡</sup>  1,6 ml <sup>§§</sup> (modo Enable Less Sample [Ativar menos amostra])	5,3 ml <sup>‡</sup>  4,1 ml <sup>§§</sup> (modo Enable Less Sample [Ativar menos amostra])	n/a	n/a
BD #768165 PAXgene ccfDNA 16 × 100	BD	10 ml PAXgene Blood ccfDNA Tube, 16 × 100 mm	768165	Não é necessário introdutor	n/a	n/a	Consulte a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool	

\* Consulte também a lista de materiais de laboratório disponível no separador Product Resources (Recursos do produto) em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou no separador Resources (Recursos) em [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com).

<sup>†</sup> Previamente fornecido pela BD.

<sup>‡</sup> Volume de amostra mínimo necessário por amostra, por protocolo (incluindo volume morto); deteção de coágulo é possível.

<sup>§</sup> Volume mínimo de amostra reduzido utilizando o **modo Enable Less Sample** (Ativar menos amostra). O **modo Enable Less Sample** (Ativar menos amostra) foi concebido para utilizar todo o líquido disponível em combinação com a deteção de nível líquido e a deteção de coágulos. O **modo Enable Less Sample** (Ativar menos amostra) resulta na sinalização de amostras como **ambiguas**.

n/a, não aplicável.

## Gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis)

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagentes
Posição B1	n/a
Suporte de pontas 1-17	Disposable filter-tips, 200 ou 1500 µl
Suporte de caixa de unidades 1-4	Caixas de unidades contendo cartuchos de preparação de amostras ou 8-Rod Covers

n/a = não aplicável.

## Gaveta "Waste" (Resíduos)

Suporte de caixa de unidades 1-4	Caixas de unidades vazias
Suporte de saco de resíduos	Saco de resíduos
Suporte do frasco de resíduos líquidos	Frasco de resíduos líquidos vazio

## Gaveta "Eluate" (Eluato)

Fornecedor	Material	Exemplo de n.º de catálogo	Categoria	Nome no ecrã tátil	Adaptador na ranhura de eluição 1 (arrefecida)
QIAGEN	Elution Microtubes CL 96	Fornecidos com o kit (19588)	Poço profundo	QIA#19588* EMTR	Elution Microtube Rack QS
Eppendorf®	1,5 ml DNA LoBind® Tube	0030108,051	Tube, 1,5 ml	EP#0030108.051** T1.5 Snap Cap	Snap-Cap Microtube
Sarstedt®	1,5 ml Microtube, PP, non-skirted	72607	Tube, 1,5 ml/ Tube, 1,5 ml Adapter V1 (no BC)	SAR#72.607* T1.5 Screw/SAR#72.607** T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS
Sarstedt	2,0 ml Microtube, PP, non-skirted	72693	Tube 2,0 ml/ Tube_2,0 ml AdapterV1 (no BC)	SAR#72.693 *T2.0 Screw	Microtube Screw Cap QS
Starlab®	1,5 ml Microtube, graduated conical tube, non-skirted	E1415-2231	Tube, 1,5 ml/ Tube_1,5 ml AdapterV1 (no BC)	SL#E1415-2231 *T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS, 24-wells, n.º de cat. 9020674 (ranhura de arrefecimento 1)
				SL#E1415-2231 **T1.5 Screw	Microtube Screw Cap QS (ranhura de arrefecimento 1)
				SL#E1415-2231 T1.5 Screw	1,5/2,0 ml QS (ranhuras sem arrefecimento 2-4)

\* Indica o material de laboratório que pode ser arrefecido com um adaptador de arrefecimento com código de barras (transferível e utilizável no QIAsymphony AS).

\*\* Indica o material de laboratório que pode ser arrefecido com um adaptador de arrefecimento sem código de barras (não transferível e não utilizável no QIAsymphony AS).

## Material de plástico necessário

Material de plástico	PAXcircDNA_2400		PAXcircDNA_4800	
	PAXcircDNA PrimaryTube_2400		PAXcircDNA PrimaryTube_4000	
	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*	Um lote, 24 amostras*	Dois lotes, 48 amostras*
Disposable filter-tips, 200 µl†	24	48	24	48
Disposable filter-tips, 1500 µl††	64	128	104	200
Sample prep cartridges§	15	30	18	36
8-Rod Covers¶	3	6	3	6
	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*	Três lotes, 72 amostras*	Quatro lotes, 96 amostras*
Disposable filter-tips, 200 µl†	72	96	72	96
Disposable filter-tips, 1500 µl††	192	256	296	392
Sample prep cartridges§	45	60	54	72
8-Rod Covers¶	9	12	9	12

\* A utilização de menos de 24 amostras por lote diminui o número de pontas com filtro descartáveis necessárias por ensaio. A realização de mais do que uma inventariação requer pontas com filtro descartáveis adicionais.

† Estão disponíveis 32 pontas com filtro/suporte de pontas com filtro.

‡ O número de pontas com filtro necessárias inclui pontas com filtro para 1 inventariação por cartucho de reagentes.

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

¶ Estão disponíveis doze mangas de 8-Rod Covers/caixa de unidades

**Nota:** O número de pontas com filtro fornecido pode diferir do número apresentados no ecrã tátil, dependendo das definições. Recomendamos o carregamento do número máximo possível de pontas.

## Volume de eluição

Volume de eluição selecionado (µl)*	Volume de eluição inicial (µl)†
60	75

\* Este é o volume acessível mínimo de eluato no tubo de eluição final para QIAGEN EMT rack (n.º de cat. 19588) e 1,5 ml Sarstedt screw cap tubes (n.º de cat. 72.607). Em casos específicos, o volume de eluato final para amostras individuais pode ter até menos 5 µl.

† O volume inicial de tampão de eluição necessário para assegurar que o volume real de eluato é igual ao volume selecionado.

## Preparação de Proteinase K na posição 1 (e, se necessário, na posição 2) da ranhura A

O QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit contém uma solução de Proteinase K pronta a utilizar. A Proteinase K pode ser conservada à temperatura ambiente (15–25 °C). Para armazenamento por um período de tempo prolongado, sugerimos manter os frascos de enzimas com Proteinase K a 2–8 °C.

Número de amostra	PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* (µl)	PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* (µl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11 660†
96	11 660†	23 320†

\* Para cada amostra, são necessários 110 µl (para 2400 µl de plasma) ou 220 µl (para 4800/4000 µl de plasma), mais um volume morto adicional de 1100 µl [(n × 110 ou 220 µl) + 1100 µl].

† Se forem necessários mais do que 11660 µl, utilize um segundo tubo (Corning, n.º de cat. 352051). Para o segundo tubo, é necessário utilizar um volume morto adicional de 1100 µl.

**Nota:** Os tubos que contêm Proteinase K são colocados num transportador de tubos. O transportador de tubos que contém Proteinase K deve ser colocado nas posições 1 e 2 na ranhura A da gaveta "Sample" (Amostra). Recomendamos a utilização de tubos com base redonda de 14 ml, 17 × 100 mm em polistireno (Corning, n.º de cat. 352051) para Proteinase K.

# Histórico de revisões do documento

Data	Alterações
04/2021	Primeira edição
05/2022	Remoção de "(CE-IVD)" em algumas ocorrências. Atualização de uma das notas no passo 5 do protocolo na secção "A) Preparação do plasma a partir de sangue para protocolos padrão". Atualização da secção "Volume de amostra". Inclusão de <a href="http://www.preanalytix.com">www.preanalytix.com</a> como ligação para encontrar os respetivos recursos.
07-2023	Endereço postal da PreAnalytiX GmbH alterado de "Feldbachstrasse" para "Garstligweg 8". Atualização de acordo com as novas diretrizes de marca.



Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncias de responsabilidades específicas do produto, consulte o manual do utilizador ou o manual do kit PreAnalytiX ou QIAGEN respetivo. Os manuais do utilizador e os manuais dos kits PreAnalytiX e QIAGEN estão disponíveis em [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com) e [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitados aos Serviços de Assistência da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

**Better samples  
More to explore**

Explore mais em: [www.preanalytix.com](http://www.preanalytix.com)

HB-2866-S01-004 07/2023

 **PreAnalytiX**  
A QIAGEN / BD Company