

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

IVD

Para uso em diagnóstico in vitro

	Σ	REF	Versão
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	192	937556	V2
QIAsymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit (192)	192	937566	V1
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (96)	96	937555	V1

CE

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA

R3 **MAT**

1133891PTBR

Conteúdo

Uso pretendido.....	4
Usuário pretendido	4
Descrição e princípio	5
Resumo e explicação	7
Materiais fornecidos	8
Conteúdos do kit.....	8
Materiais necessários, mas não fornecidos	10
Reagentes adicionais	10
Consumíveis	10
Equipamento.....	11
Protocolo e materiais de laboratório	11
Avisos e precauções	12
Informações de segurança.....	12
Informações de emergência.....	13
Precauções	14
Descarte.....	16
Armazenamento e manuseio dos reagentes	17
Estabilidade em uso.....	17
Transporte, armazenamento e manuseio de espécimes	19
Procedimento	20
Purificação automatizada no QIAAsymphony SP.....	20
Protocolo: Purificação de DNA livre circulante	26

Controle de qualidade	31
Limitações.....	31
Características de desempenho	32
Guia de solução de problemas	33
Símbolos	36
Informações de contato	38
Apêndice: Quantificação de DNA livre circulante	39
Informações para pedidos	40
Histórico de revisões do documento.....	42

Uso pretendido

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 pretendido

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.

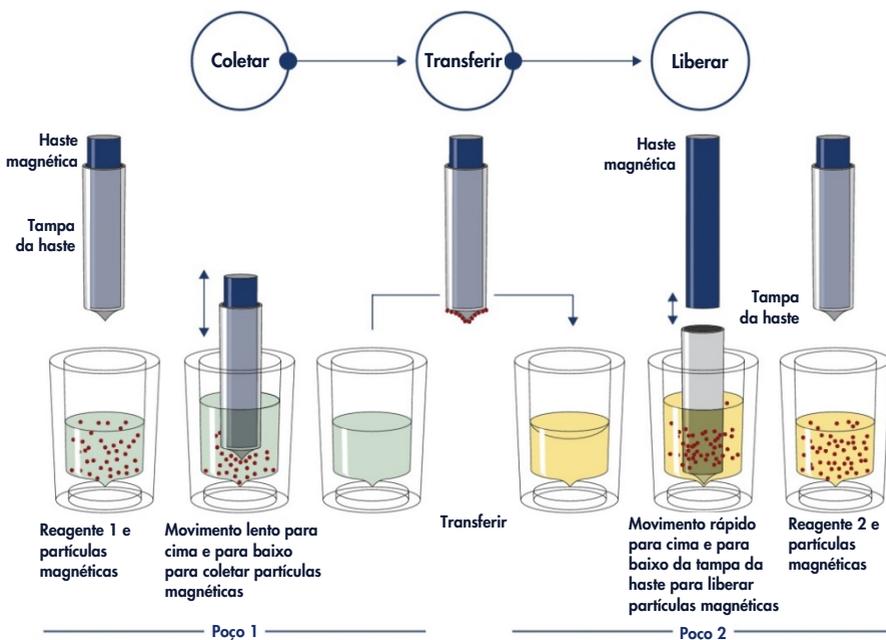
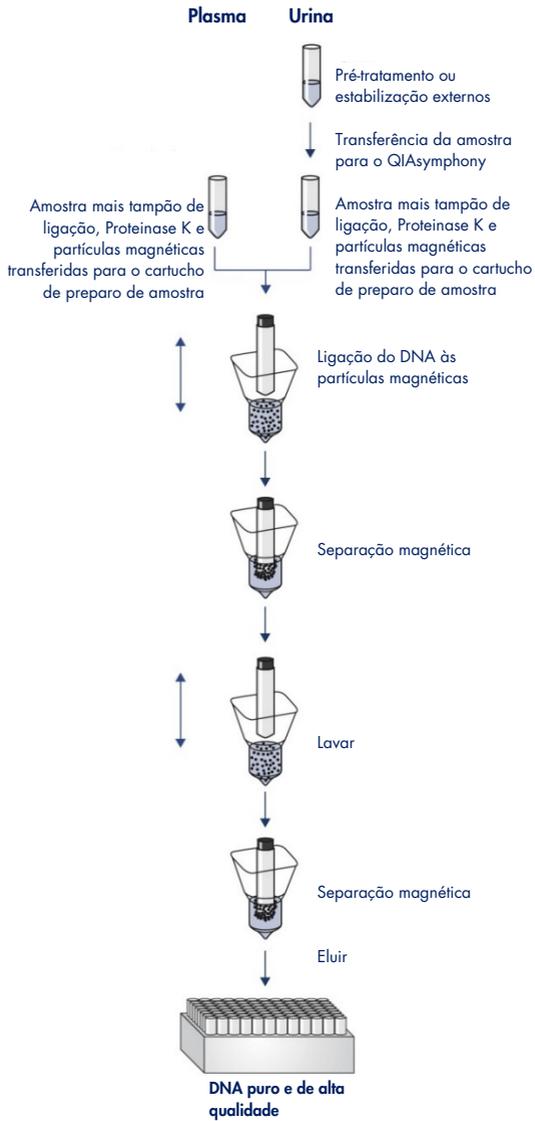


Figura 1. Diagrama esquemático do princípio do QIAsymphony SP. O QIAsymphony SP processa uma amostra que contém partículas magnéticas da seguinte maneira: uma haste magnética protegida por uma tampa é inserida em um poço que contém a amostra e atrai as partículas magnéticas. A tampa cilíndrica da haste 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 uma cabeça magnética que contém um conjunto 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

Conteúdos do kit

Abreviações	Identidade	Quantidade		
RC REAG CART	Reagent cartridge (Cartucho de reagentes)*	2	2	2
PROTK PROTK	QIAGEN Proteinase K (Proteinase K QIAGEN)	3 x 10 ml†	6 x 10 ml	13 x 10 ml
PL	Piercing lid (Tampa perfurante)	2	2	2
RSS	Reuse Seal Set (Conjunto de vedação reutilizável)‡	2	2	2
	Instruções de uso (Manual)	1	1	1

* Contém azida de sódio como conservante.

† Frascos adicionais de Proteinase K devem ser solicitados para volumes de amostra de 6 ml, 8 ml e 10 ml para processar 96 amostras no total (consulte o ponto de reagentes adicionais).

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

Componentes do kit

Os componentes principais do kit que contêm ingredientes ativos são explicados abaixo.

Reagente	Componentes	Concentração (p/p) [%]*
Cartucho de reagentes (RC, Reagent cartridge)	Detergente não iônico	$\geq 0,5$ a < 10 [w/w]
	Partícula magnética por troca de ânions	n/a
	NaOH	$\geq 0,05$ a $< 0,1$ [w/w]
	Etanol	≥ 70 a < 90 [v/v]
QIAGEN Proteinase K (Proteinase K QIAGEN)	Proteinase K	≥ 1 a < 3 % [w/w]

* Concentração máxima em poço único.

Controles e calibradores

Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados do diagnóstico, devem ser usados controles adequados para aplicações posteriores.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre utilize um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas 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)
- Proteinase K (n° de ref. 19134) para volume de amostra 6–10 ml para uso com o QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (96)
- Tampão fosfato-salino (PBS, pode ser necessário para preencher volumes de amostra)

Para obter informações adicionais sobre como encomendar a Proteinase K, consulte a ficha de protocolo disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com.

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 µl (n° de ref. 990332) e 1500 µl (n° de ref. 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
- Ponteiras de pipetas para pipetas ajustáveis (para evitar a contaminação cruzada, recomendamos fortemente a utilização de ponteiras de pipetas com barreiras contra aerossóis)

Equipamento

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

- QIASymphony SP (n° de ref. 9001297)
- Agitador tipo vórtex
- Pipetas (ajustáveis)

Protocolo e materiais de laboratório

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

Avisos e precauções

Esteja ciente de que poderá ser necessário consultar os 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:

- Também é possível inserir as IDs de amostra manualmente (para obter detalhes, consulte o *Manual do usuário do QIAsymphony SP*). Se forem inseridos manualmente dados de ID incorretos, poderá ocorrer uma correlação incorreta entre a amostra e o paciente.

Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre utilize um jaleco adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas. 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.

- Todas as substâncias químicas e materiais biológicos são potencialmente perigosos. As amostras são potencialmente infecciosas e devem ser manuseadas e descartadas de acordo com os procedimentos de segurança locais.

- A QIAGEN não testou os resíduos líquidos gerados pelo procedimento do QIASymphony DSP Circulating DNA Kit quanto à presença de materiais residuais infecciosos. Logo, as precauções universais (luvas, jalecos e proteção ocular) para manusear material de fonte humana potencialmente infeccioso devem ser usadas enquanto trabalha com este produto e os resíduos líquidos devem ser considerados infecciosos, e ser manuseados e descartados de acordo com os regulamentos de segurança locais.
- 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).

AVISO**Risco de lesões pessoais**

Não adicione alvejante ou soluções ácidas diretamente aos resíduos do preparo de amostras.

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

Sodium azide

Contém: Azida de sódio. Pode ser nocivo se ingerido. 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 alergias ou sintomas de asma ou dificuldades respiratórias. Evite respirar poeira/fumaça/gás/névoa/vapores/spray. Descarte o conteúdo/recipiente em um local de descarte de resíduos aprovado. Se tiver sintomas respiratórios: ligue para um CENTRO DE ENVENENAMENTO ou médico. SE INALADO: Se houver dificuldade para respirar, leve a vítima a um local com ar livre e deixe-a em repouso em uma posição confortável para respirar. Usar proteção respiratória.

QSW9



Contém: etanol. Perigo! Causa irritação grave nos olhos. Líquido e vapor altamente inflamáveis. Descarte o conteúdo/recipiente em um local de descarte de resíduos aprovado. Se a irritação nos olhos persistir: consulte um médico. Mantenha afastado do calor/faíscas/chamas abertas/superfícies quentes. - Proibido fumar. Armazene em local bem ventilado. Manter resfriado. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

Descarte

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

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 SDS para cada kit e componente do kit QIAGEN.

Armazenamento e manuseio dos reagentes

Deve-se prestar atenção às datas de validade e às condições de armazenamento impressas na caixa. Não use componentes cuja data de validade tenha vencido ou que tenham sido incorretamente armazenados.

Os QIAasymphony DSP Circulating DNA Kits devem ser armazenados em posição vertical em temperatura ambiente (15–25 °C). O armazenamento em temperaturas abaixo de 15 °C pode levar à formação de precipitados nos tampões (ver Pontos Importantes antes de Começar na página 26).

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

Quando armazenado devidamente, o kit permanece estável até o fim do prazo de validade indicado na caixa do kit.

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.

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 no máximo 15 horas (incluindo os tempos de execução) a uma temperatura ambiente máxima de 32 °C. O armazenamento incorreto dos componentes do kit pode acelerar o envelhecimento dos tampões.

A execução de lotes com números de amostras baixos (<24) aumentará o tempo de abertura do cartucho de reagentes (RC) e os volumes de tampão necessários, reduzindo potencialmente o número total de preparo de amostras possíveis 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.

Transporte, armazenamento e manuseio de espécimes

Nota: A estabilidade da amostra e o desempenho da extração de ácido nucleico dependem muito de vários fatores, como dispositivo e método de coleta de amostra, temperatura de armazenamento, ciclos de congelamento e descongelamento e condições de transporte, e estão relacionados à aplicação específica a jusante. Ela foi estabelecida para os QIAasymphony DSP Circulating DNA Kits em conjunto com dispositivos de coleta de amostra exemplares e aplicações a jusante. O usuário é responsável por consultar as instruções de uso do dispositivo de coleta de amostra e da aplicação a jusante específicos usados em seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

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 cartucho de reagentes (Figura 2, na página 21). Cada reservatório do cartucho de reagentes contém um determinado reagente, como partículas magnéticas, tampão de ligação, tampão de lavagem ou tampão de eluição. Cartuchos de reagentes parcialmente usados podem ser fechados novamente com tiras de vedação reutilizáveis para evitar a geração de evaporação e podem ser armazenados até serem necessários novamente, consulte "Armazenamento e manuseio de reagentes", página 17.



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

Antes de iniciar o procedimento, 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).

Nota: A tampa perfurante é afiada. Cuidado ao colocá-la no cartucho de reagentes. Certifique-se de colocar a tampa perfurante no cartucho de reagentes na orientação correta e empurre-a suavemente para baixo até que ela se encaixe no lugar. O RC é perfurado pelo instrumento QIASymphony SP.

Antes de usar, remova o reservatório de partículas magnéticas da estrutura do cartucho de reagentes, agite-o em vórtex vigorosamente por pelo menos 3 minutos para garantir que as partículas magnéticas estejam totalmente ressuspensas e, em seguida, recoloque-o na estrutura do cartucho de reagentes.

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

Se estiver usando RCs parcialmente usados, certifique-se de remover as tiras de vedação reutilizáveis.

Remova a película ou tampa do reservatório de partículas magnéticas e, em seguida, coloque o cartucho de reagente na gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e Consumíveis).

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

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 ponteiros com filtro descartáveis (ponteiros de 200 µl fornecidas em racks azuis e ponteiros 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 ponteiros têm filtros que ajudam a evitar a contaminação cruzada.

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

Nota: Não preencha novamente os racks para ponteiros ou as caixas unitárias para cartuchos de preparo de amostras ou 8-Rod Covers antes de iniciar outra execução do protocolo. O QIASymphony SP pode utilizar racks para ponteiros 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 40.

Carregamento da gaveta "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 ponteiras 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. Descarte 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" (Eluição)

Carregue a rack de eluição necessária 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.

Leitura do conteúdo

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

Preparo de material de amostra

Os QIASymphony 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 muito 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 validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer as condições de armazenamento adequadas.

As condições de armazenamento e a duração dos ácidos nucleicos purificados dependem do tipo de amostra usado.

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 QIAAsymphony SP
Plasma, urina	1000	60	circDNA_1000_DSP
Plasma, urina	2000	60	circDNA_2000_DSP
Plasma, urina	4000	60	circDNA_4000_DSP
Plasma, urina	6000	60	circDNA_6000_DSP
Plasma, urina	8000	60	circDNA_8000_DSP
Plasma, urina	10000	60	circDNA_10000_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 QIAAsymphony DSP Kits. As informações detalhadas sobre cada protocolo, incluindo volumes e tubos, são fornecidas nas fichas de protocolo e lista de materiais de laboratório disponíveis na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Pontos importantes antes de começar

- Assim que receber o kit, verifique se há algum dano nos respectivos componentes. Não use componentes de kits danificados, uma vez que o seu uso pode prejudicar o desempenho do kit, causar lesões ao usuário ou danificar o instrumento.
- Esteja familiarizado com o funcionamento do QIAAsymphony 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”, começando 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.
- Os procedimentos de controle de qualidade na QIAGEN incluem testes funcionais de aprovação de kits para todos os lotes individuais de kits. Portanto, não misture reagentes de lotes de kits diferentes e não combine reagentes individuais de diferentes lotes de reagentes.
- 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 as partículas magnéticas estão completamente ressuspenas. Agite vigorosamente em vórtex o reservatório de partículas magnéticas por, pelo menos, 3 minutos antes do uso.
- 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).

* Certifique-se de que os instrumentos foram verificados, mantidos e calibrados regularmente de acordo com as instruções do fabricante.

- 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 a rack de eluição necessária 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. Execute uma verificação de inventário da gaveta "Reagents and Consumables" (Reagentes e consumíveis).
8. Coloque as amostras no respectivo porta-amostras e carregue-as na gaveta "Sample" (Amostra).

Nota: Para garantir a detecção completa no nível do líquido, empurre os tubos para baixo até o fundo do transportador de tubo ou introdutor, caso introdutores sejam usados.

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 a rack de eluição contendo os ácidos nucleicos purificados da gaveta "Eluate" (Eluato).
14. O DNA está pronto para ser usado ou pode ser armazenado.

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 33).

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 17.
16. Descarte os tubos de amostras usados e os resíduos de acordo com os regulamentos de segurança locais.
Consulte "Avisos e precauções", na página 12, 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 QIASymphony 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 sangue foi coletado em tubos de coleta de sangue sem estabilizadores de perfil de cfDNA (tubos de EDTA) e tubos de coleta de sangue com estabilizadores de perfil de cfDNA (PAXgene® Blood ccfDNA Tube, PreAnalytiX; Cell-Free DNA BCT®, Streck®).

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 controles adequados para aplicações posteriores. 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.

Para obter mais informações sobre Limitações, consulte a respectiva ficha de protocolo disponível na guia Recursos da página de produto em www.qiagen.com.

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 mais informações, consulte também a página de perguntas frequentes no nosso Centro de Suporte Técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Os cientistas da Assistência Técnica da QIAGEN estão sempre prontos para 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 ressuspendidas | Antes de iniciar o procedimento, verifique se todas as partículas magnéticas estão completa e novamente suspensas. Agite em vórtex por, pelo menos, 3 minutos antes de usar. |
| b) Obstrução da ponteira da 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. |
| 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. |

Comentários e sugestões

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>circDNA_6000_DSP: Se forem carregados menos de 6,6 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 5,9 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_8000_DSP: Se forem carregados menos de 8,6 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 7,8 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_10000_DSP: Se forem carregados menos de 10,8 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 9,9 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.

Comentários e sugestões

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 microcentrífuga 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 Europeu 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
WELL	Número de poços (isto é, poço do cartucho de reagentes)
Sodium azide	Azida de sódio
E1OH	Etanol
UDI	Identificador único do dispositivo
	Extremidade afiada
VOL	Volume
	Este lado para cima

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 a contracapa 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 para pedidos

Produto	Conteúdo	Nº de ref.
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit	Inclui 2 cartuchos de reagentes e tubos de proteinase K e acessórios	937556
QIAsymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit (192)	Inclui 2 cartuchos de reagentes e tubos de proteinase K e acessórios	937566
QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (96)	Inclui 2 cartuchos de reagentes e tubos de proteinase K e acessórios	937555
Instrumento relacionado		
QIAsymphony SP	Módulo de preparo de amostras do QIAsymphony	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 na gaveta "Eluate" (Eluato) do QIAsymphony	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Adaptador de resfriamento para racks EMT. Para uso nos instrumentos QIAsymphony SP/AS (software versão 3.1 ou superior)	9020730

Produto	Conteúdo	Nº de ref.
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Tubos Eppendorf® LoBind de 1,5 ml com trava de segurança na tampa de encaixe "snap cap". Para uso na gaveta "Eluate" (Eluato) do QIASymphony	9020731
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartuchos de preparo de amostras de 8 poços para uso com o QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	8-Rod Covers para uso com o QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µL (1024)	Ponteiras com filtro descartáveis, em rack; (8 x 128). Para uso com o QIACube® e o QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µL, Qsym SP (1024)	Ponteiras com filtro descartáveis, em rack; (8 x 128). Para uso com o QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Saco para descarte de ponteiras para uso com os instrumentos QIASymphony SP/AS	9013395
Reuse Seal Set (20)	Reuse Seal Set para a vedação de cartuchos de reagentes QIASymphony	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 solicitadas à assistência técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Histórico de revisões do documento

Revisão	Descrição
	Versão 2, Revisão 1
R1, junho de 2022	<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	Versão 2, Revisão 2
	<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
R3, junho de 2024	<ul style="list-style-type: none">• A versão do documento foi removida do histórico de revisões• Adicionado o QIAsymphony DSP Circulating DNA Maxi Kit (192) e o QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit (96)• Adicionado BioScript para volume de amostra de 6 ml, 8 ml e 10 ml (circDNA 6000 DSP, circDNA 8000 DSP e circDNA 10000 DSP)

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 por usuários da QIAGEN para 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 especificamente se isenta de quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, além daquelas expressamente declaradas.
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 relacionados ao painel e/ou seus componentes.

Para ver os termos de licença atualizados, consulte www.qiagen.com.

Marcas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAsymphony®, PAXgene®, QIAcube® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck); Eppendorf® (Eppendorf AG). Os nomes registrados, as marcas registradas etc., usadas neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser consideradas protegidas pela lei.

Junho de 2024 HB-3034-003 1133891 © 2024 QIAGEN, todos os direitos reservados.