

# Instruções de uso (Ficha de protocolo) do QIAsymphony<sup>®</sup> DSP Circulating DNA Kit

circDNA\_2000\_DSP\_V2 e circDNA\_4000\_DSP\_V2

Versão 2

**IVD**

Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com o QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



**REF**

937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemanha

R1

A ficha de protocolo está disponível eletronicamente e pode ser encontrada na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Informações gerais

Para uso em diagnóstico in vitro.

Este protocolo destina-se à purificação de DNA livre circulante a partir de plasma e urina humanos recém-coletados ou congelados utilizando o QIASymphony DSP Circulating DNA Kit e o instrumento QIASymphony SP.

<b>Kit</b>	QIASymphony DSP Circulating DNA Kit	
<b>N° de referência</b>	937556	
<b>Material de amostra</b>	Plasma humano: <ul style="list-style-type: none"><li>A partir de tubos de coleta de sangue com estabilizadores de perfil ccfDNA (por ex., Cell-Free DNA BCT®, Streck®)</li><li>A partir de tubos de coleta de sangue sem estabilizadores de perfil ccfDNA (por ex., EDTA)</li></ul> Urina humana: <ul style="list-style-type: none"><li>Com estabilizadores de perfil de cfDNA</li><li>Sem estabilizadores de perfil cfDNA</li></ul>	
<b>Nome do protocolo</b>	circDNA_2000_DSP_V2	circDNA_4000_DSP_V2
<b>Conjunto padrão de controle de ensaio</b>	ACS_circDNA_2000_DSP_V2	ACS_circDNA_4000_DSP_V2
<b>Volume de eluição</b>	60 µl	60 µl
<b>Versão de software necessária</b>	Versão 4.0 ou superior	Versão 5.0 ou superior
<b>Configuração de software necessária para uso em IVD (diagnóstico in vitro)</b>	Perfil padrão 1	Perfil padrão 1

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, disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

## Gaveta "Sample" (Amostra)

<b>Tipo de amostra</b>	Plasma e urina humanos (consultar "Preparo de material de amostra")
<b>Volume de amostra</b>	Depende do tipo de tubo de amostra utilizado Para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Tubos de amostra primários</b>	n/a
<b>Tubos de amostra secundários</b>	Para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .
<b>Insertos</b>	n/a
<b>Outro</b>	A proteinase K precisa ser adicionada à fenda A (posição 1, 2 e/ou 3)

n/a = não aplicável.

## Preparo da proteinase K na gaveta "Sample"

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

Nota: Os tubos que contêm proteinase K são colocados em um porta-tubos. O(s) tubo(s) contendo a proteinase K devem ser colocados nas posições 1, 2 e/ou 3 na fenda A da gaveta "Sample" (Amostra). Para o tipo de tubo necessário, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Número de amostras*	circDNA_2000_DSP (µl)	circDNA_4000_DSP (µl)
8	1980	2860
24	3740	6380
48	6380	11.660
72	9020	18.040†
96	11.660	23.320†

\* Para cada amostra, são necessários 110 µl para circDNA\_2000\_DSP ou 220 µl para circDNA\_4000\_DSP, mais um volume morto adicional de 1100 µl [(n x 110 ou 220 µl) + 1100 µl].

† Para circDNA\_4000\_DSP: Se mais de 48 amostras forem processadas, utilize um segundo tubo. O volume de carga máximo por tubo é de 11,660 µl. Para o segundo tubo, é necessário um volume morto adicional de 1100 µl.

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

Posição A1 e/ou A2	Cartucho de reagentes (RC)
Posição B1	n/a
Suporte de rack para ponteiras, 1–18	Disposable filter-tips, 200 ou 1500 µl
Suporte de caixa unitária, 1–4	Caixas unitárias com cartuchos de preparo de amostras ou 8-Rod Covers

n/a = não aplicável.

## Gaveta "Waste" (Resíduos)

Suporte de caixa unitária, 1–4	Caixas unitárias vazias
Suporte de saco de resíduos	Saco de resíduos
Suporte de recipiente de resíduos líquidos	Recipiente de resíduos líquidos

## Gaveta "Eluate" (Eluato)

Rack de eluição (recomenda-se utilizar a fenda 1, na posição de resfriamento)

Para obter mais informações, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Materiais plásticos necessários

### Protocolo circDNA\_2000\_DSP

Materiais plásticos	Um lote 24 amostras*	Dois lotes 48 amostras*	Três lotes 72 amostras*	Quatro lotes 96 amostras*
Disposable filter-tips, 200 µl†	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†	56	112	168	224
Cartuchos de preparo de amostras§	15	30	45	60
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

\* Utilizar menos de 24 amostras por lote reduz o número de ponteiras com filtro descartáveis necessárias por execução de teste.

† Há 32 ponteiras com filtro por rack para ponteiras.

‡ O número necessário de ponteiras com filtro inclui as ponteiras com filtro para 1 verificação de inventário por RC.

§ Há 28 cartuchos de preparo de amostras por caixa unitária.

¶ Há doze 8-Rod Covers por caixa unitária.

### Protocolo circDNA\_4000\_DSP

Materiais plásticos	Um lote 24 amostras*	Dois lotes 48 amostras*	Três lotes 72 amostras*	Quatro lotes 96 amostras*
Disposable filter-tips, 200 µl†	28	56	84	112
Disposable filter-tips, 1500 µl†	96	192	288	384
Cartuchos de preparo de amostras§	18	36	54	72
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

\* Utilizar menos de 24 amostras por lote reduz o número de ponteiras com filtro descartáveis necessárias por execução de teste.

† Há 32 ponteiras com filtro por rack para ponteiras.

‡ O número necessário de ponteiras com filtro inclui as ponteiras com filtro para 1 verificação de inventário por RC.

§ Há 28 cartuchos de preparo de amostras por caixa unitária.

¶ Há doze 8-Rod Covers por caixa unitária.

Nota: Dependendo das configurações, a quantidade de ponteiras com filtro fornecida pode diferir da quantidade exibida na tela sensível ao toque. Por exemplo, o número de controles internos utilizados por lote.

## Volume de eluição

Volume de eluição selecionado	Volume de eluição inicial
60 µl	75 µl

O volume de eluição é selecionado na tela sensível ao toque. O volume médio de eluição disponível é  $\geq 60$  µl. Em casos individuais, o volume de eluato final para amostras unitárias pode ser até 5 µl menor do que o volume selecionado (p. ex., 55 µl). Recomenda-se verificar o volume de eluato real ao utilizar um sistema automatizado de configuração de ensaio que não verifica o volume de eluato antes da transferência.

## Armazenamento de eluatos

Nota: A estabilidade do eluato depende altamente de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para o QIASymphony DSP Circulating DNA Kit em conjunto com 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.

Recomenda-se remover a placa de eluato da gaveta "Eluate" (Eluato) imediatamente após o término da execução. As placas de eluição podem ser deixadas no QIASymphony SP após a conclusão da execução do teste de um dia para o outro (máximo de 16 horas incluindo o tempo de execução; condições ambientais recomendadas: 18–26 °C e umidade relativa de 20–75%). Dependendo da temperatura e umidade, o eluato pode sofrer condensação ou evaporação.

Após o preparo da amostra, os eluatos podem ser armazenados a 2–8 °C por até 1 mês e a -20 °C ou a -80 °C por até 2 meses. Os eluatos congelados não devem ser descongelados mais de 3 vezes.

## Preparo de material de amostra

Nota: A estabilidade de amostra depende altamente de vários fatores e está relacionada à aplicação a jusante específica. Ela foi estabelecida para o QIASymphony DSP Circulating DNA Kit em conjunto com 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.

### Plasma humano

Ao utilizar tubos de coleta de sangue com estabilizadores de perfil ccfDNA, as instruções do fabricante para realizar a preparação, o armazenamento, o transporte e o manuseio geral do plasma devem ser seguidas. Ao utilizar tubos de coleta de sangue sem estabilizadores de perfil ccfDNA e se as instruções para preparação, armazenamento, transporte e manuseio geral do plasma estiverem disponíveis pelo fornecedor do procedimento do exame dedicado, estas devem ser seguidas. Para obter mais detalhes, consulte ISO 20186-3:2019 (E) Exames de diagnóstico in vitro moleculares – Especificações para processos de pré-exame para sangue total venoso – Parte 3: DNA livre circulante isolado de plasma.

Independentemente das instruções do fabricante do tubo de coleta de sangue, os seguintes aspectos devem ser considerados de acordo com a ISO 20186-3:2019 (E) para a extração automatizada de ccfDNA do plasma usando o QIASymphony DSP Circulating DNA Kit e o instrumento QIASymphony SP.

As amostras de sangue sem estabilizador de perfil ccfDNA podem ser usadas para a preparação de plasma (por ex., tubo de coleta de sangue com EDTA). O plasma preparado a partir de tubos com estabilizador de perfil ccfDNA também pode ser usado (por ex., Cell-Free DNA BCT de Streck).

Ao utilizar EDTA ou citrato como anticoagulante, recomenda-se conduzir a separação de plasma imediatamente após a doação de sangue.

Para determinadas aplicações a jusante, pode ser necessário excluir ou minimizar os ácidos nucleicos nas vesículas. Nestes casos, recomenda-se realizar um passo de centrifugação em alta velocidade a 16.000 x g por 10 minutos à temperatura ambiente (15–25 °C) após a geração inicial do plasma.

Após a coleta e centrifugação, o plasma pode ser armazenado à temperatura ambiente por até 7 dias e a 2–8 °C por até 14 dias. Para armazenamento prolongado até 24 meses, recomenda-se congelar as alíquotas a -20 °C ou -80 °C. O plasma congelado não deve ser descongelado mais de 3 vezes. O congelamento e descongelamento repetido leva à desnaturação e precipitação de proteínas, resultando potencialmente em uma redução dos rendimentos de ácidos nucleicos circulantes livres de células. Recomenda-se descongelar o plasma em banho-maria a 30 °C por 30 minutos. Se os crioprecipitados estiverem visíveis nas amostras, eles devem ser removidos antes de carregar a amostra no instrumento. Os crioprecipitados podem ser resolvidos agitando a amostra em vórtex (certifique-se de que a espuma, se visível na parte superior da amostra, seja removida antes de carregar a amostra no instrumento). Alternativamente, os crioprecipitados podem ser removidos por centrifugação ou transferência do sobrenadante sem perturbar o pellet para um tubo de amostra secundário (consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)). Inicie o procedimento de purificação imediatamente.

## Urina humana

Devido à rápida degradação de ccfDNA após a coleta da urina, recomenda-se veementemente a estabilização imediata das amostras de urina. As aplicações a jusante exemplares foram utilizadas para o QIASymphony DSP Circulating DNA Kit para estabelecer as recomendações para o manuseio e estabilização da urina. Embora o kit seja usado como um front-end para diversas aplicações a jusante, o manuseio da urina precisa ser estabelecido para qualquer fluxo de trabalho como parte do desenvolvimento da aplicação a jusante. Alternativamente, ao usar um estabilizador de perfil cfDNA comercialmente disponível para urina, as instruções do fabricante devem ser seguidas.

## Urina humana estabilizada

A urina estabilizada pode ser conservada à temperatura ambiente (15–25 °C) ou a 2–8 °C por até 7 dias. Para armazenamento prolongado até 24 meses, recomenda-se congelar as alíquotas a -20 °C ou -80 °C.

As amostras de urina estabilizadas não necessitam de pré-tratamento de amostra. Após a estabilização, recomenda-se centrifugar as amostras de urina em baixa velocidade (1900 x g) por 10 minutos à temperatura ambiente (15–25 °C) para remover as células antes da extração de ccfDNA. Se os precipitados ficarem visíveis nos sobrenadantes após a centrifugação, aqueça as amostras até 25 °C em banho-maria para dissolvê-los. Antes de iniciar uma execução, transfira as amostras de urina estabilizadas para um tubo de amostra secundário e, em seguida, carregue esse tubo no porta-amostras (consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Urina humana "não estabilizada"

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

**Nota:** O Buffer ATL (4 x 50 ml, n° de ref. 939016) não está incluso no QIASymphony DSP Circulating DNA Kit e deve ser encomendado separadamente.

Recomenda-se centrifugar as amostras de urina imediatamente após a coleta em baixa velocidade (1900 x g) por 10 minutos à temperatura ambiente (15–25 °C) para remover as células. As amostras de urina não estabilizadas necessitam de pré-tratamento de amostra.

**Importante:** equilibre as amostras à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar o pré-tratamento.

**Importante:** deve-se realizar a centrifugação e o pré-tratamento dentro de 4 horas após a coleta da amostra de urina.

- Misture 2500 µl de urina (circDNA\_2000\_DSP) ou 4500 µl de urina (circDNA\_4000\_DSP) com 250 µl ou 450 µl de Buffer ATL, respectivamente.
- Incube as amostras à temperatura ambiente (15–25 °C) por 1 hora.
- Centrifugue as amostras a 1900 x g por 10 minutos à temperatura ambiente (15–25 °C).
- Se os precipitados ficarem visíveis nos sobrenadantes após a centrifugação, aqueça as amostras até 25 °C em banho-maria para dissolvê-los.
- Transfira os sobrenadantes para um tubo de amostra secundário e, em seguida, carregue esse tubo no porta-amostras (consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

**Importante:** a estabilidade e integridade do ccfDNA é limitada na urina não estabilizada. Recomenda-se carregar no máximo um lote de 24 amostras por execução de teste QIASymphony para minimizar o tempo das amostras de urina no equipamento.

### Pontos importantes antes do carregamento de amostras

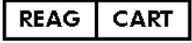
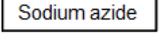
- Evite a formação de espuma nas amostras ou sobre elas.
- As amostras devem ser equilibradas à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar a execução.

### Substâncias interferentes

As amostras de plasma com concentrações altas de gamaglobulina (> 30 g/l) podem reduzir a recuperação do DNA livre circulante.

## Símbolos

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

Símbolo	Definição do símbolo
	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
	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

## Histórico de revisões

Revisão	Descrição
R1, junho de 2022	Versão 2, Revisão 1 <ul style="list-style-type: none"><li>• Atualização para a versão 2 para conformidade com o IVDR</li><li>• Redação para o manuseio de espécimes atualizada a fim de considerar a ISO 20186-3:2019 (E) Exames de diagnóstico in vitro moleculares – Especificações para processos de pré-exame para sangue total venoso – Parte 3: DNA livre circulante isolado de plasma</li></ul>

Para obter informações atualizadas sobre licenças e avisos legais específicos de produtos, consulte o manual do usuário ou o manual do respectivo kit QIAGEN®. Os manuais do usuário e os manuais de kits QIAGEN estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitados à Assistência Técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); Cell-Free DNA BCT®, Streck® (Streck). Os nomes registrados, as marcas etc. utilizados neste documento, mesmo quando não marcados especificamente como tal, devem ser considerados protegidos pela lei.

06/2022 HB-3034-S01-001 © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.