

Março de 2017

Manual do kit QIAAsymphony[®] DSP Circulating DNA - Instruções de uso



192

Versão 1



Para uso diagnóstico in vitro



937556



QIAGEN GmbH,
QIAGEN Strasse 1,
40724 Hilden
ALEMANHA



1103177PT

Sumário

Uso pretendido.....	3
Resumo e explicação	3
Princípios do procedimento.....	4
Materiais fornecidos	7
Conteúdo do kit	7
Materiais necessários mas não fornecidos	8
Avisos e precauções	9
Armazenamento e manuseio de reagentes	11
Componentes do kit.....	11
Coleta e preparo de amostras.....	12
Procedimento	13
Purificação automatizada no QIAasymphony SP.....	13
Protocolo: Purificação de DNA livre circulante.....	20
Controle de qualidade	23
Limitações.....	23
Símbolos	24
Guia de resolução de problemas.....	26
Apêndice: Quantificação de DNA livre circulante	30
Informações para pedidos	31

Uso pretendido

O kit QIAasymphony DSP Circulating DNA utiliza uma tecnologia de partículas magnéticas para o isolamento e purificação automatizados do DNA livre circulante (ccfDNA) humano dos espécimes biológicos.

O uso deste produto destina-se a usuários profissionais, como técnicos e médicos treinados em técnicas de biologia molecular.

O kit QIAasymphony DSP Circulating DNA destina-se ao uso diagnóstico in vitro.

Resumo e explicação

Os ácidos nucleicos livres circulantes (ccfDNAs) estão presentes no plasma ou na urina normalmente como fragmentos curtos, <1000 pb (DNA) <1000 nt (RNA) ou tão pequenos quanto 20 nt (miRNAs). A concentração de ácidos nucleicos livres circulantes em fluidos biológicos, como plasma ou urina, é geralmente baixa e varia consideravelmente entre indivíduos. Para ccfDNA, a concentração pode variar de 1 a 100 ng/ml. O sistema QIAasymphony DSP Circulating DNA é um sistema in vitro pronto para uso criado para a purificação qualitativa de DNA livre circulante (ccfDNA) provindo de plasma humano e urina humana utilizando o instrumento QIAasymphony SP.

O kit QIAasymphony DSP Circulating DNA fornece reagentes para a purificação totalmente automatizada e simultânea de ccfDNA humano dos espécimes biológicos. 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 (*downstream*). O QIAasymphony 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.

Princípios do procedimento

A tecnologia QIAasymphony combina a velocidade e a eficiência da purificação de ácidos nucleicos baseada 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 reproduzível 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.

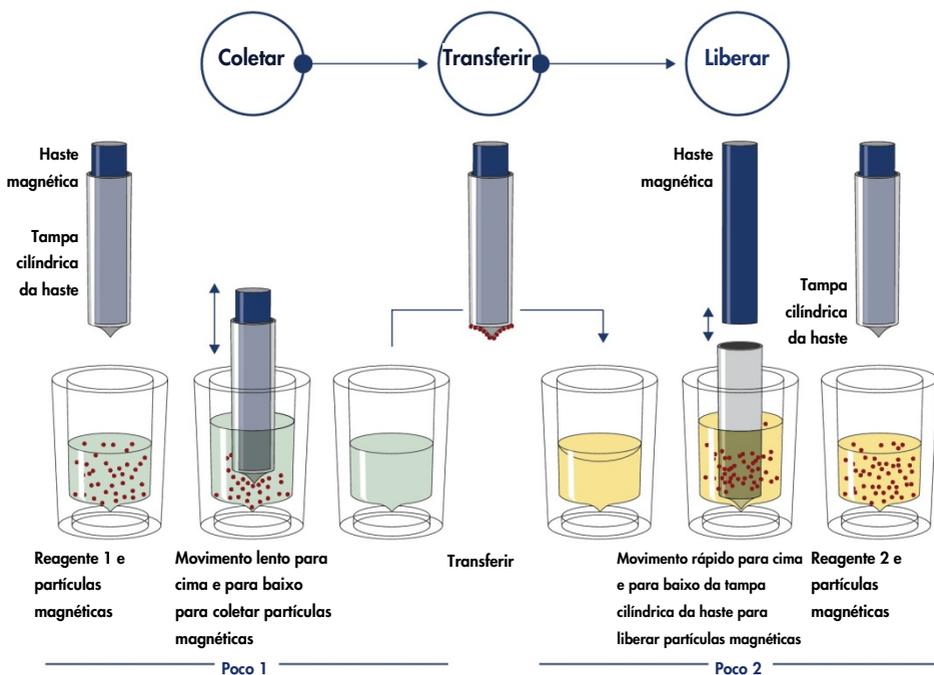
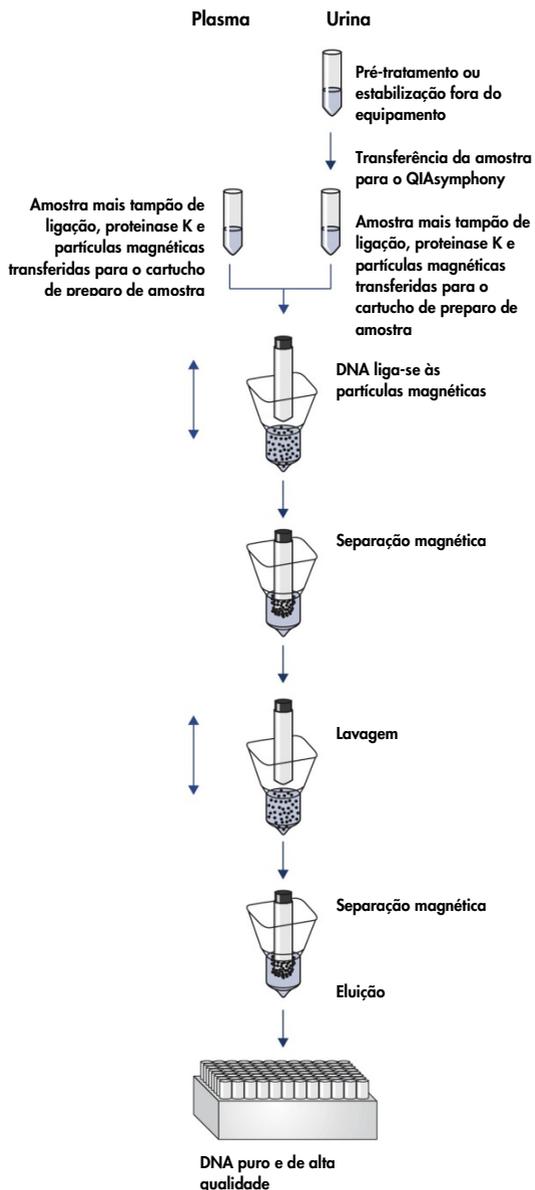


Figura 1. Diagrama esquemático do princípio do QIASymphony SP. O QIASymphony SP processa uma amostra que contém partículas magnéticas da seguinte maneira: uma haste magnética protegida por uma tampa cilíndrica é inserida em um poço que contém a amostra e atrai as partículas magnéticas. A tampa cilíndrica 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 uma cabeça magnética que contém uma matriz de 24 hastas magnéticas e, portanto, pode processar até 24 amostras simultaneamente.

Procedimento do QIAAsymphony DSP Circulating



Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit		(192)		
Número de catálogo		937556		
Número de reações		192		
Identificação		Quantidade		
RC	Reagent cartridge (Cartucho de reagentes)*	<table border="1"><tr><td>REAG</td><td>CART</td></tr></table> †	REAG	CART
REAG	CART			
PROTK	QIAGEN Proteinase K (Proteinase K QIAGEN)	6 x 10 ml		
PL	Piercing lid (Tampa perfurante)	2		
RSS	Reuse Seal Set (Conjunto de vedação reutilizável)‡	2		
	Instruções de uso - Manual	1		

* Contém azida de sódio como preservante.

† Consulte a página 24 para obter uma lista de símbolos e definições.

‡ Um conjunto de vedação reutilizável contém 8 tiras vedantes reutilizáveis.

Materiais necessários mas não fornecidos

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre utilize um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as nossas fichas de dados de segurança (SDSs) disponíveis com o fornecedor do produto.

Certifique-se de que os instrumentos tenham sido verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

- QIASymphony SP (n° de catálogo 9001297)
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (Cartuchos de preparo de amostras, cartuchos de 8 poços) (n° de catálogo 997002)
- 8-Rod Covers (Tampas de 8 hastes) (n° de catálogo 997004)
- Filter-Tips, 200 µl and 1500 µl (ponteiros com filtro, 200 µl ou 1500 µl) (n° de catálogo 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 de 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 de recursos da página de produto em www.qiagen.com.
- Tampão fosfato-salino (PBS pode ser necessário para preencher volumes de amostra)
- Agitador tipo vórtex
- Buffer ATL (Tampão ATL, para pré-tratamento de amostras de urina, n° de catálogo 939016)
- Para mais materiais necessários para pré-tratamento e estabilização de amostras de urina, consulte a lista de materiais de laboratório disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com.

Avisos e precauções

Para uso diagnóstico in vitro

Leia atentamente todas as instruções antes de utilizar o kit.

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre utilize um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (SDSs) adequadas. 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.

AVISO



Risco de lesões corporais

Não adicione água sanitária ou soluções ácidas diretamente nos resíduos do preparo da amostra.

Os tampões no cartucho de reagentes (RC) contêm azida de sódio. Se houver derramamento do líquido dos tampões do kit, limpe com detergente laboratorial 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).

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

MBS3

Contém: Azida de sódio. Cuidado! Pode ser nocivo se ingerido. Entre em contato com um CENTRO DE CONTROLE DE INTOXICAÇÕES E ENVENENAMENTOS ou 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 poeira/fumaça/gás/neblina/vapores/spray. Elimine o conteúdo/recipiente em um local de eliminação de resíduos aprovado. Se tiver sintomas respiratórios: Entre em contato com um CENTRO DE CONTROLE DE INTOXICAÇÕES E ENVENENAMENTOS 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. Use proteção respiratória.

QSE2



Perigo! Causa queimaduras graves na pele e lesões oculares. Elimine o conteúdo/recipiente em um local de eliminação de resíduos aprovado. SE EM CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se presentes e fácil de serem removidas. Continue enxaguando. SE EM CONTATO COM A PELE (ou cabelo): Remova/retire imediatamente toda a roupa contaminada. Lave a área afetada da pele com água/no chuveiro. Entre em contato imediatamente com um CENTRO DE CONTROLE DE INTOXICAÇÕES E ENVENENAMENTOS ou médico. Armazene em local trancado. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

QSW9



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

Armazenamento e manuseio de reagentes

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

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

Não use o kit QIASymphony DSP Circulating DNA com prazo de validade vencido.

Componentes do kit

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

Não armazene os cartuchos de reagentes (RC) em temperaturas inferiores a 15°C.

Os cartuchos de reagentes (RC) parcialmente usados podem ser armazenados por um máximo de 4 semanas, permitindo assim a reutilização econômica dos reagentes e um processamento de amostras mais flexível. Se um cartucho de reagentes (RC) estiver parcialmente usado, substitua a tampa do reservatório contendo as partículas magnéticas e vede os cartuchos de reagentes (RC) com as tiras de vedação reutilizáveis fornecidas imediatamente após o fim do ciclo de execução do protocolo para evitar a evaporação.

Para evitar a evaporação do reagente, o cartucho de reagentes (RC) deve ficar aberto por um máximo de 15 horas (incluindo os tempos dos 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 (RC) à luz ultravioleta (UV) (p. ex., usados para descontaminação), porque tal exposição pode acelerar o envelhecimento dos cartuchos de reagentes (RC) e dos tampões.

Coleta e preparo de amostras

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

Procedimento

Purificação automatizada no QIA Symphony SP

O QIA Symphony SP facilita e torna mais prático o preparo automatizado de amostras. Amostras, reagentes, materiais de consumo e eluatos são separados em gavetas diferentes. Basta carregar amostras, reagentes fornecidos em cartuchos especiais e materiais de consumo previamente inseridos no rack na respectiva gaveta antes de um ciclo de 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 veementemente 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/goto/dsphandbooks.

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

Os reagentes para a purificação do DNA estão contidos em um inovador cartucho de reagentes (RC) (Figura 2, na página 14). Cada reservatório do cartucho de reagentes (RC) contém um determinado reagente, como partículas magnéticas, tampão de ligação, tampão de lavagem ou tampão de eluição. Os cartuchos de reagentes (RC) parcialmente usados podem ser fechados com as tiras de vedação reutilizáveis (RSS), disponíveis para este uso posterior, o que evita a criação de resíduos devido a restos de reagentes no fim do procedimento de purificação.

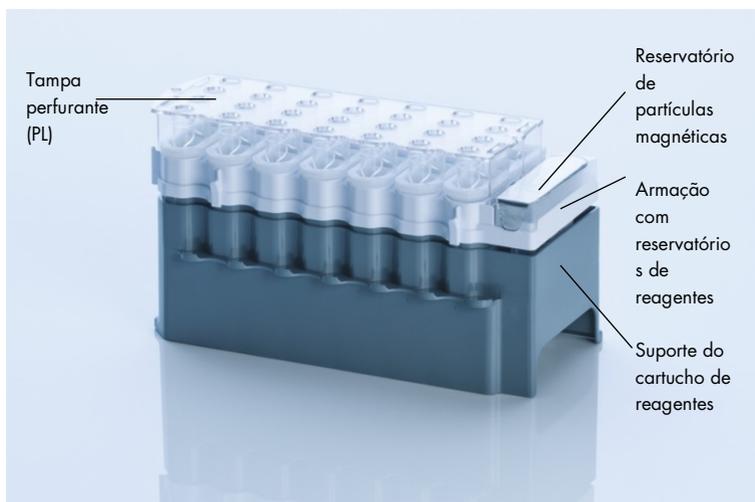


Figura 2. Cartucho de reagentes (RC) do QIAAsymphony. O cartucho de reagentes (RC) contém todos os reagentes necessários para a execução do protocolo.

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

Nota: A tampa perfurante (PL) é afiada. Cuidado ao colocá-la no cartucho de reagentes (RC). Coloque a tampa perfurante (PL) no sentido correto no cartucho de reagentes (RC).

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

Os cartuchos de reagentes (RC) parcialmente usados podem ser armazenados até seu uso ser necessário novamente (consulte “Armazenamento e manuseio de reagentes” na página 11).

Nota: A proteinase K deve ser adicionada de acordo com as informações fornecidas na ficha de protocolo na guia de 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 material plástico na gaveta “Reagents and Consumables”

Os cartuchos de preparo de amostras, tampas de 8 hastes (ambos previamente inseridos no rack em caixas unitárias) e ponteiras com filtro descartáveis (ponteiras de 200 µl fornecidas em racks azuis, ponteiras de 1500 µl fornecidas em racks cinzas) são carregados na gaveta “Reagents and Consumables”.

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

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

As fendas (ranhuras) 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 ponta carregado durante a inventariação (leitura do conteúdo).

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 começar outra execução do

protocolo. O QIAasympyphony SP pode utilizar racks para ponteiras e caixas unitárias parcialmente usados.

Para saber quais são os materiais de consumo necessários, consulte a respectiva ficha de protocolo disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com. Para informações sobre o pedido de materiais plásticos, consulte a página 31.

Carregamento da gaveta “Waste” (Resíduos)

Os cartuchos de preparo de amostras e as tampas de 8 hastes usados durante uma execução são novamente colocados no rack em caixas unitárias vazias na gaveta “Waste”. Verifique se a gaveta “Waste” contém caixas unitárias vazias suficientes para os resíduos plásticos gerados durante o ciclo de execução do protocolo.

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

Coloque um saco para as ponteiras com filtro usadas na parte frontal da gaveta “Waste”.

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 do 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” 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 após ter sido processado um máximo de 96 amostras.

Carregamento da gaveta “Eluate”

Carregue o rack de eluição necessário na gaveta “Eluate”. Como o armazenamento a longo prazo de eluatos na gaveta “Eluate” pode provocar a evaporação dos eluatos, recomenda-se veemente a utilização da posição de resfriamento. Utilize somente a “Elution slot 1” (Fenda de eluição 1) com o adaptador de resfriamento correspondente.

Inventariação (leitura do conteúdo)

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

Preparo de material de amostra

O QIA Symphony DSP Circulating DNA foi projetado para a purificação automatizada de DNA livre circulante do plasma humano e urina humana (Tabela 1, na página 19).

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 operação.

Para obter mais informações sobre o procedimento automatizado (incluindo informações sobre os tubos de amostra que podem ser utilizados com protocolos específicos) e pré-tratamento específico de amostras, consulte a respectiva ficha de protocolo disponível na guia de recursos da página de produto em **www.qiagen.com**.

Armazenamento do DNA

Após o preparo da amostra, os eluatos podem ser armazenados a 2–8°C por até 1 mês. Para um armazenamento a longo prazo, os eluatos podem ser mantidos a -20°C ou -80°C. Os eluatos congelados não devem ser descongelados mais de três vezes.

Visão geral do protocolo

Tabela 1. Visão geral do protocolo

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

Pontos importantes antes de iniciar

- Esteja familiarizado com o funcionamento e operação 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 veemente recomendada para reduzir o risco de contaminação.
- Antes de iniciar o procedimento, leia os “Princípios do procedimento”, na página 4.
- Esteja familiarizado com a ficha de protocolo relativa ao procedimento que deseja utilizar. As fichas de protocolo estão disponíveis na guia de recursos da página de produto em **www.qiagen.com**.
- Evite agitar vigorosamente o cartucho de reagentes (RC) para não gerar espuma, o que poderia causar problemas de detecção do nível de líquido.
- Antes de iniciar um pré-tratamento que exige tampão ATL, verifique se há formação de precipitado no tampão ATL. Se necessário, dissolva-o aquecendo a 70°C, agitando-o suavemente em banho-maria. Aspire as bolhas presentes na superfície do tampão ATL.

Tarefas antes de iniciar

- Antes de iniciar o procedimento, verifique se todas as partículas magnéticas estão completamente ressuspensas. Agite em vórtex vigorosamente o reservatório que contém partículas 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 tem de ser fornecida pelo usuário (gaveta de amostra, fenda A, posição 1 e/ou 2). Certifique-se de que haja disponível o volume correto de proteinase K. Para obter informações detalhadas, consulte a ficha de protocolo disponível na guia de recursos da página de produto em **www.qiagen.com**.
- Se as amostras tiverem código de barras, oriente-as no porta-tubos para uma posição em que os códigos de barras fiquem virados para o respectivo leitor à esquerda 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 de 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 de recursos da página de produto em **www.qiagen.com**.

Protocolo: Purificação de DNA livre circulante

O seguinte é um protocolo geral para uso com os kits QIASymphony DSP. Informações detalhadas sobre cada protocolo, incluindo volumes e tubos, são fornecidas nas fichas de protocolo disponíveis na guia de recursos da página de produto em **www.qiagen.com**.

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

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

3. Faça o log-on no instrumento.
4. Carregue o rack de eluição necessário na gaveta "Eluate".

Não carregue uma placa de 96 poços na "Elution slot 4" (Fenda de eluição 4). Deve-se utilizar a "Elution slot 1" com o adaptador de resfriamento correspondente.

Ao usar uma placa de 96 poços, verifique se a placa está na posição correta, porque se não estiver, isto pode causar uma mistura de amostras na análise a jusante.

Ao usar um rack de microtubos de eluição CL, remova o fundo do rack torcendo-o até que esta parte se solte.
5. Certifique-se de que a gaveta "Waste" esteja adequadamente preparada e faça uma inventariação da gaveta "Waste", incluindo a calha da ponteira e os resíduos líquidos. Substitua o saco de eliminação de ponteiras se necessário.
6. Carregue o(s) cartucho(s) de reagentes e materiais de consumo na gaveta "Reagents and Consumables".
7. Realize uma inventariação da gaveta "Reagents and Consumables".
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 amostra (dependendo do tipo de rack de amostra utilizado)
 - Protocolo a ser executado ("Assay Control Set", Conjunto de controle de teste)
 - Volume de eluição e posição de saída

Após terem sido inseridas 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 e 2 e carregue-a na fenda A da gaveta "Sample".
11. Defina a proteinase K pressionando o botão **IC**.

12. Pressione o botão **Run** para iniciar o procedimento de purificação.

Todos os passos de processamento são inteiramente 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".

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" imediatamente após o término da execução. Dependendo da temperatura e umidade, a placa de eluato deixada no QIA Symphony SP após o término da execução pode sofrer 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 "Apêndice: Quantificação de DNA livre circulante", na página 30).

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 (RC) usados, consulte "Armazenamento e manuseio de reagentes", na página 11.

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

Consulte "Avisos e precauções", na página 9, para obter informações sobre segurança.

17. Limpe o QIA Symphony 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 kit QIASymphony DSP Circulating DNA 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 DNA livre circulante 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, deve-se utilizar os controles adequados para aplicações a jusante. Para uma validação mais detalhada, recomendam-se as diretrizes da Conferência Internacional de Harmonização de Requisitos Técnicos (ICH) 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 juntamente com outros resultados clínicos ou laboratoriais.

Símbolos

Os símbolos na tabela a seguir incluem símbolos empregados nestas instruções de uso.



<N>

Contém reagentes suficientes para <N> reações



Utilize até

IVD

Dispositivo médico para diagnóstico in vitro

REF

Número de catálogo

LOT

Número de lote

MAT

Número do material (isto é, etiquetagem do componente)

COMP

Componentes (isto é, uma lista do que está incluso)

CONT

Contém (conteúdo)

NUM

Número (isto é, frascos, recipientes)

GTIN

Número de item de comércio mundial

Rn

R representa a revisão das Instruções de Uso (Manual) e n representa o número de revisão



Limites de temperatura



Fabricante



Consulte as instruções de uso



Cuidado



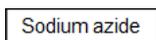
Proteinase K



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



Cartucho de reagentes



Azida de sódio

Guia de resolução de problemas

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

Comentários e sugestões

Manuseio geral

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

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

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

Baixo índice de rendimento de DNA

- | | |
|---|---|
| a) As partículas magnéticas não foram completamente ressuspenas | Antes de iniciar o procedimento, verifique se todas as partículas magnéticas estão completamente ressuspenas. Agite em vórtex por, pelo menos, 3 minutos antes de usar. |
|---|---|

Comentários e sugestões

- b) Obstrução da ponta da pipeta devido a material insolúvel
- O material insolúvel não foi retirado da amostra antes do início do procedimento de purificação QIA Symphony.
- Se necessário, utilize procedimentos de pré-tratamento conforme descrito na respectiva ficha de protocolo disponível na guia de recursos da página de produto em www.qiagen.com).
- c) Material de amostra contém baixa concentração de DNA livre circulante
- Devido a quantidades muito baixas de DNA livre circulante 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 (RC) 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 do DNA livre circulante em amostra de urina não estabilizada
- Devido à rápida degradação do DNA livre circulante 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
- Se forem carregados, respectivamente, menos de 2,4 ml e 4,5 ml de volume de amostra, há um risco maior de um alerta "incerto" na amostra ou de não haver a transferência da amostra (alerta "inválido").
- 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.
- b) Bolhas e/ou espuma no tubo de amostra
- Bolhas ou espuma na amostra e/ou no tubo de inserção de amostra podem resultar em falsa detecção do nível de líquido e, em seguida, em

Comentários e sugestões

transferência incompleta da amostra. Remova as bolhas do tubo de amostra.

Bolhas nas ponteiros visíveis durante a execução no instrumento

Utilize o material de laboratório FIX juntamente com um volume de inserção de amostra reduzido

Se forem carregados, respectivamente, menos de 2,1 ml e 4,1 ml de volume de amostra utilizando o material de laboratório FIX, há um risco maior de transferência reduzida de volume de amostra que não é detectada pelo instrumento. Isto pode resultar na formação de bolhas durante a transferência da amostra e/ou na etapa de ligação subsequente.

Carregue o volume correto de amostra conforme descrito na respectiva lista de materiais de laboratório utilizando o FIX. Se houver amostra insuficiente, antes de carregá-la adicione PBS à amostra até o volume de amostra exigido.

Apêndice: Quantificação de DNA livre circulante

Devido a concentrações muito baixas de DNA livre circulante 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 teste de quantificação baseado em fluorescência sensível e preciso ou um teste de PCR em tempo real.

Se for preciso remover as partículas magnéticas, aplique o tubo que contém o DNA a um separador magnético adequado (p. ex., QIAGEN 12-Tube Magnet, n° de catálogo 36912) até as partículas magnéticas serem separadas.

Se o DNA estiver em microplacas, aplique a microplaca a um separador magnético adequado (p. ex., QIAGEN 96-Well Magnet Type A, n° de catálogo 36915) 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.

Informações para pedidos

Produto	Conteúdo	Nº de catálogo
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Inclui 2 cartuchos de reagentes e tubos de proteinase K e também acessórios	937556
QIASymphony SP		
QIASymphony SP	Módulo de preparo de amostra QIASymphony SP, 1 ano de garantia em peças e mão de obra	9001297
Produtos relacionados		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	Tampão ATL de 4 x 50 ml para o pré-tratamento de amostras de urina	939016
Proteinase K (10 ml)	Frasco de 1 x 10 ml	1105392
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 roscada. Para uso com a gaveta "Eluate" do QIASymphony	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Adaptador de resfriamento para racks EMT. Para uso com a gaveta "Eluate" do QIASymphony	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Adaptador de resfriamento para tubos Eppendorf® LoBind de 1,5 ml com trava de segurança na tampa de encaixe "snap cap". Para uso com a gaveta "Eluate" do QIASymphony	9020731

Produto	Conteúdo	N° de catálogo
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartuchos de preparo de reagentes de 8 poços para uso com o QIAAsymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	Tampas de 8 hastes para uso com o QIAAsymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Ponteiras com filtro descartáveis, no rack; (8 x 128). Para uso com o QIAcube® e o QIAAsymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Ponteiras com filtro descartáveis, no rack; (8 x 128). Para uso com o QIAAsymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Sacos para eliminação de ponteiras para uso com o QIAAsymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Ímã para a separação de partículas magnéticas em tubos de 12 x 1,5 ml ou 2 ml	36912
96-Well Magnet Type A	Ímã para a separação de partículas magnéticas em poços de placas de 96 poços, 2 microplacas de 96 poços FB	36915
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	19588

Produto	Conteúdo	N° de catálogo
	capacidade de eluição); 2304 em racks de 96; inclui tiras de tampa	

Para obter informações atualizadas sobre licenciamento e isenções de responsabilidade específicas de produtos, consulte o manual do usuário ou o manual de kit QIAGEN. Os manuais de kit e manuais do usuário da QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados na Assistência Técnica da QIAGEN ou com o seu distribuidor local.

A aquisição deste produto permite que o comprador utilize-o para a realização de serviços diagnósticos para diagnóstico in vitro humano. Não se concede neste nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo que não seja este direito de uso específico de compra.

Marcas registradas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAcube® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG).

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

Contrato de Licença Limitada para o kit QIASymphony DSP Circulating DNA

O uso deste produto significa a aceitação, por parte de qualquer comprador ou usuário do produto, das seguintes condições:

1. O produto só pode ser utilizado em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e este manual e apenas ser utilizado com os componentes contidos no kit. A QIAGEN não concede qualquer licença sob sua propriedade intelectual para o uso ou incorporação dos componentes incluídos neste kit com qualquer componente não incluído neste kit, exceto conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, este manual e quaisquer protocolos adicionais disponíveis em www.qiagen.com. Alguns destes protocolos adicionais foram fornecidos por usuários QIAGEN para usuários QIAGEN. Estes protocolos não foram devidamente testados nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece qualquer garantia de que tais protocolos não infrinjam direitos de terceiros.
2. Com exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este kit e/ou a sua(s) utilização(ões) não infrinja os direitos de terceiros.
3. Este kit e seus componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, renovados ou revendidos.
4. Com exceção das licenças expressamente declaradas, a QIAGEN recusa especificamente qualquer outra licença, expressa ou implícita.
5. O comprador e usuário do kit concorda em não tomar nem permitir que qualquer outra parte tome medidas que possam conduzir ou facilitar qualquer dos atos acima proibidos. A QIAGEN pode impor as proibições deste Contrato de Licença Limitada em qualquer Tribunal e recuperará todos os seus custos legais e de investigação, incluindo honorários advocatícios, em qualquer processo destinado a fazer cumprir este Contrato de Licença Limitada ou qualquer dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao kit e/ou seus componentes.

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

HB-2309-001 1103177PT 154029180 02/2017

© 2017 QIAGEN, todos os direitos reservados.

