

Abril de 2021

# Instruções de utilização do instrumento QIASymphony<sup>®</sup> SP (folha de protocolo)

Para o PreAnalytiX QIASymphony PAXgene<sup>®</sup> Blood ccfDNA Kit (CE-IVD) e para o PreAnalytiX PAXgene Blood ccfDNA Tube (CE-IVD; **CE 0123**)

Protocolos PAXgene Blood ccfDNA IVD:

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

---

## Informações gerais

Para utilização em diagnóstico in vitro.

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

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

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

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

Tabela 1. Informações gerais sobre a utilização do QIASymphony PAXgene Blood ccfDNA Kit (CE-IVD)

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

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

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

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

Nota: Para um melhor desempenho com amostras refrigeradas antes da centrifugação, deixe que os tubos se aclimatizem à temperatura ambiente antes de os processar.

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

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

4. Pipete o volume de plasma necessário (consulte a secção "Volume da amostra" na página 6) para um tubo com base redonda de 14 ml, 17 x 100 mm em polistireno, certificando-se de que não interfere com o pellet de células sanguíneas residual, se presente.

5. Transfira o tubo com base redonda com a amostra de plasma para o transportador de tubos e coloque o transportador de tubos na gaveta de entrada da amostra do instrumento QIASymphony SP.

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

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

Nota: Após a colheita e a centrifugação do sangue, o plasma pode ser armazenado a 2–8 °C até 7 dias. Para armazenamento mais prolongado, recomendamos que as alíquotas sejam congeladas.

Nota: Quando forem utilizadas amostras de plasma previamente armazenadas (por exemplo, armazenadas a 2–8 °C ou congeladas a -20 ou -70 °C/-80 °C), estas devem ser aclimatizadas à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar a execução.

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

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

Nota: Para um melhor desempenho com amostras refrigeradas antes da centrifugação, deixe que os tubos se aclimatizem à temperatura ambiente antes de os processar.

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

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

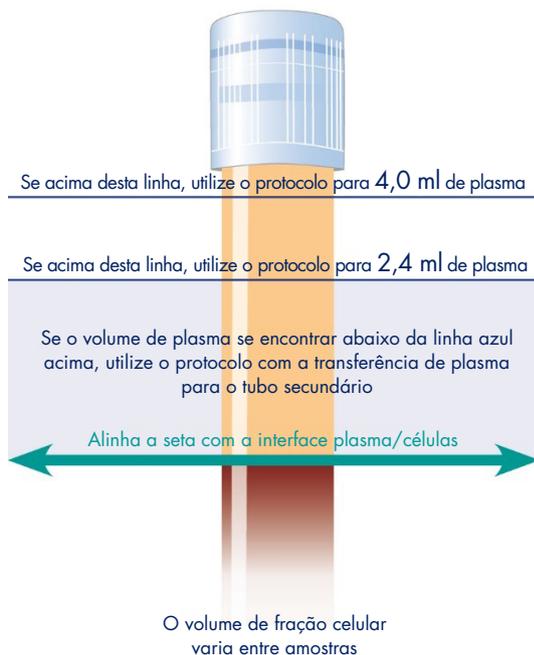


Figura 1. Determinação do volume de plasma utilizando a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool (serve apenas para efeitos de ilustração, não imprima pois o tamanho real é diferente – não utilize com amostras).

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

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

## Volume da amostra

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

## Gaveta "Sample" (Amostra)

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

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

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

n/a, não aplicável.

## Tubos de amostras para o transportador de tubos

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

| Nome no ecrã tátil                          | Fornecedor           | Material  | Exemplo de n.º de catálogo | Introdutor                  | PAXcirc DNA_2400  | PAXcirc DNA_4800  | PAXcircDNA_PrimaryTube_2400  | PAXcircDNA_PrimaryTube_4000 |
|---|----------------------|---|----------------------------|-----------------------------|---|---|--|-----------------------------|
| BD #352051<br>FalconPP<br>17 x 100          | Corning <sup>†</sup> | 14 ml<br>Falcon®<br>polystyrene<br>round-<br>bottom<br>tube<br>17 x 100<br>mm | 352051                     | Não é necessário introdutor | 2,8 ml <sup>†</sup><br><br>1,6 ml <sup>‡§</sup><br>(modo Enable Less Sample [Ativar menos amostra]) | 5,3 ml <sup>†</sup><br><br>4,1 ml <sup>‡§</sup><br>(modo Enable Less Sample [Ativar menos amostra]) | n/a  | n/a                         |
| BD #768165<br>PAXgene<br>ccfDNA<br>16 x 100 | BD                   | 10 ml<br>PAXgene<br>Blood<br>ccfDNA<br>Tube (CE-<br>IVD)<br>16 x 100<br>mm    | 768165                     | Não é necessário introdutor | n/a   | n/a   | Consulte a PAXgene Blood ccfDNA Purification Protocol Selection Tool |                             |

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

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

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

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

n/a, não aplicável.

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

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| Posição A1 e/ou A2               | Cartucho de reagentes   |
| Posição B1                       | n/a   |
| Suporte de pontas 1–17           | Pontas com filtro descartáveis, 200 µl ou 1500 µl                               |
| Suporte de caixa de unidades 1–4 | Caixas de unidades contendo cartuchos de preparação de amostras ou 8-Rod Covers |

n/a = não aplicável.

## Gaveta "Waste" (Resíduos)

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

## Gaveta “Eluate” (Eluato)

| Fornecedor | Material  | Exemplo de n.º de catálogo   | Categoria  | Nome no ecrã tátil                                       | Adaptador na ranhura de eluição 1 (arrefecida)                                     |
|------------|---|------------------------------|--|--|--|
| QIAGEN     | Elution Microtubes CL 96                              | Fornecidos com o kit (19588) | Poço profundo  | QIA#19588* EMTR  | Elution Microtube Rack QS  |
| Eppendorf® | 1.5 ml DNA LoBind® Tube                               | 0030108.051                  | Tube, 1,5 ml   | EP#0030108.051**   | Snap-Cap Microtube T1.5 Snap Cap   |
| Sarstedt®  | 1.5 ml Microtube, PP, non-skirted                     | 72607                        | Tube, 1.5 ml/<br>Tube, 1.5 ml<br>Adapter V1<br>(no BC) | SAR#72.607*<br>T1.5 Screw/<br>SAR#72.607**<br>T1.5 Screw | Microtube Screw Cap QS   |
| Sarstedt   | 2.0 ml Microtube, PP, non-skirted                     | 72693                        | Tube 2.0 ml/<br>Tube_2.0ml<br>AdapterV1<br>(no BC)     | SAR#72.693*<br>T2.0 Screw                                | Microtube Screw Cap QS   |
| Starlab®   | 1.5 ml Microtube, graduated conical tube, non-skirted | E1415-2231                   | Tube, 1.5 ml/<br>Tube_1.5ml<br>AdapterV1<br>(no BC)    | SL#E1415-2231*<br>T1.5 Screw                             | Microtube Screw Cap QS, 24-wells, n.º de cat. 9020674 (ranhura de arrefecimento 1) |
|            |   |                              |  | SL#E1415-2231**<br>T1.5 Screw                            | Microtube Screw Cap QS (ranhura de arrefecimento 1)                                |
|            |   |                              |  | SL#E1415-2231<br>T1.5 Screw                              | 1.5/2.0 ml QS (ranhuras sem arrefecimento 2-4)                                     |

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

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

## Material de plástico necessário

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

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

<sup>†</sup> Estão disponíveis 32 pontas com filtro/suporte de pontas com filtro.

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

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

<sup>¶</sup> Estão disponíveis doze mangas de 8-Rod Covers/caixa de unidades.

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

## Volume de eluição

| Volume de eluição selecionado (µl)* | Volume de eluição inicial (µl) <sup>†</sup> |
|-------------------------------------|---|
| 60                                  | 75  |

\* Este é o volume acessível mínimo de eluato no tubo de eluição final para QIAGEN EMT rack (n.º de cat. 19588) e 1,5 ml Sarstedt screw cap tubes (n.º de cat. no 72 607). Em casos específicos, o volume de eluato final para amostras individuais pode ter até menos 5 µl.

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

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

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

| Número de amostra | PAXcircDNA_2400/PAXcircDNA PrimaryTube_2400* | PAXcircDNA_4800/PAXcircDNA PrimaryTube_4000* |
|-------------------|--|--|
| 8                 | 1980 µl                                      | 2860 µl                                      |
| 24                | 3740 µl                                      | 6380 µl                                      |
| 48                | 6380 µl                                      | 11660 µl†                                    |
| 96                | 11660 µl†                                    | 23320 µl†                                    |

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

† Se forem necessários mais do que 11,660 µl, utilize um segundo tubo (Corning, n.º de cat. 352051). Para o segundo tubo, é necessário utilizar um volume morto adicional de 1100 µl.

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

## Histórico de revisões

| <b>Data</b> | <b>Alterações</b>   |
|-------------|---|
| R1, 04/2021 | Versão inicial.   |
| R2, 04-2021 | Substituição de "[CE 0123]" em texto de formato normal pelo de conformidade com os requisitos de concepção do RDIV, Anexo X |

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

Marcas comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN Group); PAXgene® (PreAnalytiX GmbH); BD™ (Becton Dickinson and Company); Corning®, Falcon® (Corning, Inc.); Eppendorf®, LoBind® (Eppendorf AG); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.); Starlab® (Starlab International GmbH). Os nomes registados, as marcas comerciais etc. utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados como tal, não devem ser considerados como não protegidos por lei.

04/2021 HB-2866-S01-002 © 2021 QIAGEN, todos os direitos reservados.

---

Encomendas [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistência técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)