

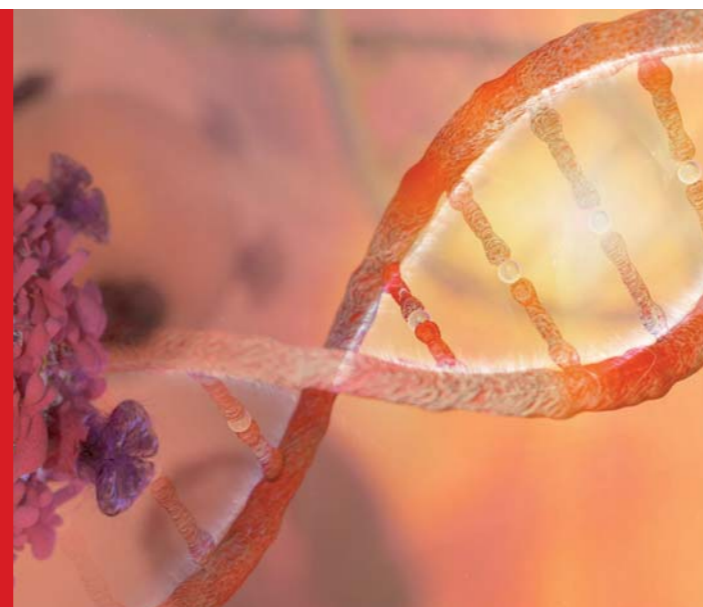
S-Monovette® cfDNA Exact

Para padronizar a pré-análise de
amostras de biópsia líquida



Vantagens do S-Monovette® cfDNA Exact:

- ✓ É possível realizar a colheita de sangue usando a técnica de aspiração ou de vácuo
- ✓ Baixa hemólise, mesmo em temperaturas mais altas
- ✓ Sem entrada de gDNA de células nucleadas
- ✓ Compatível com uma variedade de análises de acompanhamento



O biomarcador de DNA livre de células (cfDNA) desempenha um papel cada vez mais importante na detecção precoce de rejeição de transplantes, testes pré-natais não invasivos e caracterização molecular e monitoramento da terapia de doenças cancerígenas. A proteção do cfDNA da degradação e a prevenção da

liberação de DNA genômico (gDNA) de células nucleadas são fatores pré-analíticos importantes para uma boa qualidade de amostra de cfDNA. O inovador S-Monovette® cfDNA Exact garante uma excelente qualidade de amostra e resultados exatos com desempenho de estabilização garantido por **14 dias a 4 - 37°C**.

Análise do tamanho dos fragmentos de amostras de sangue armazenadas

Em contraste com o produto do concorrente, a preparação inovadora do S-Monovette® cfDNA Exact impede a entrada de gDNA de células nucleadas:

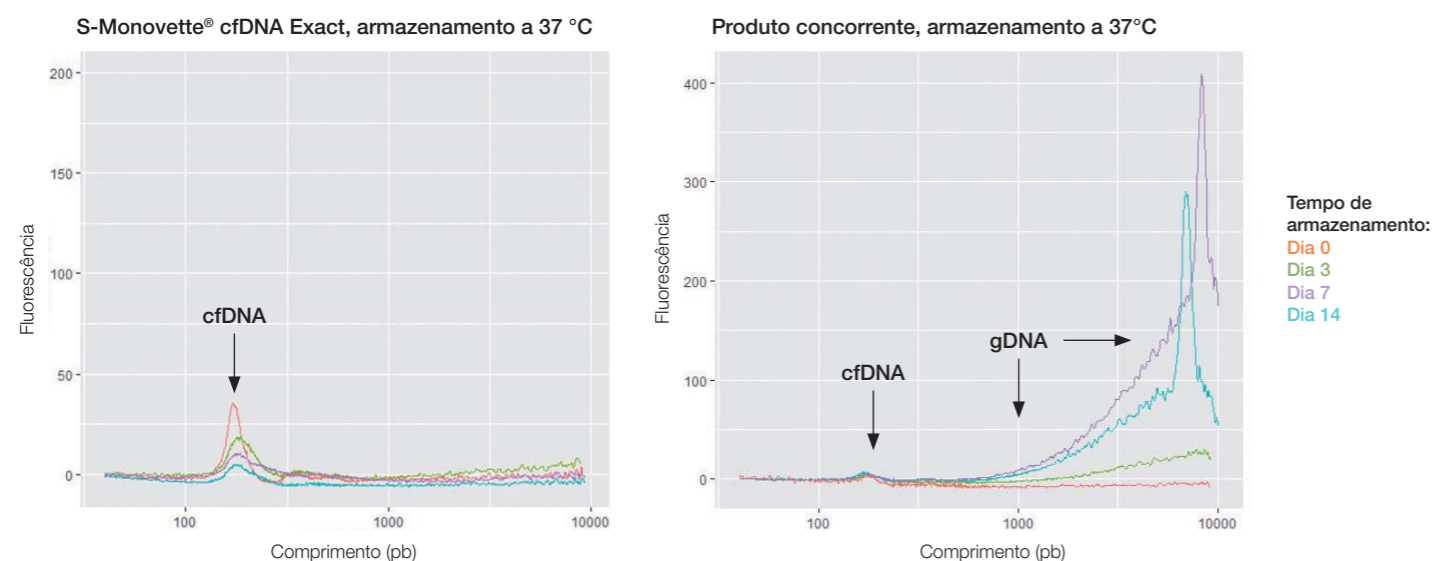


Fig. 1: As amostras de sangue foram armazenadas a 37°C entre 0 e 14 dias antes do isolamento do cfDNA (ver legenda). Os tamanhos dos fragmentos de DNA foram determinados eletroforéticamente (Bioanalyzer 2100, Agilent) e isolados usando o InviMag® Free Circulating DNA Kit/IG e o dispositivo InviGenius® PLUS (InvitexMolecular).

Conclusão

O S-Monovette® cfDNA Exact mostra um desempenho de estabilização consistente, enquanto o produto do concorrente mostra uma liberação crescente de gDNA durante o período de armazenamento, o que pode tornar a amostra inutilizável para análises subsequentes.

Valores de hemólise mais baixos

A hemólise é uma medida do estresse celular e indica a destruição das células sanguíneas durante a amostragem. A lise das células sanguíneas durante a amostragem tem um impacto direto na entrada de gDNA das células nucleadas na amostra de sangue. Já foi demonstrado que a hemólise *in vitro* pode estar associada ao aumento das concentrações plasmáticas de cfDNA derivadas de gDNA de células destruídas durante a amostragem. (El Messaoudi S, Rolet F, Mouliere F, Thierry AR. Circulating cell free DNA: Preanalytical considerations. Clin Chim Acta. 2013; 424:222-30. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.05.022>).

Assim, é importante que todas as análises de acompanhamento de cfDNA evitem qualquer forma de hemólise. A técnica de aspiração suave ao coletar amostras com o S-Monovette® cfDNA Exact garante a menor hemólise possível. Os valores de hemólise do S-Monovette® cfDNA Exact em comparação com outros produtos concorrentes estabilizadores de cfDNA disponíveis comercialmente durante o tempo de estabilização especificado são mostrados abaixo.

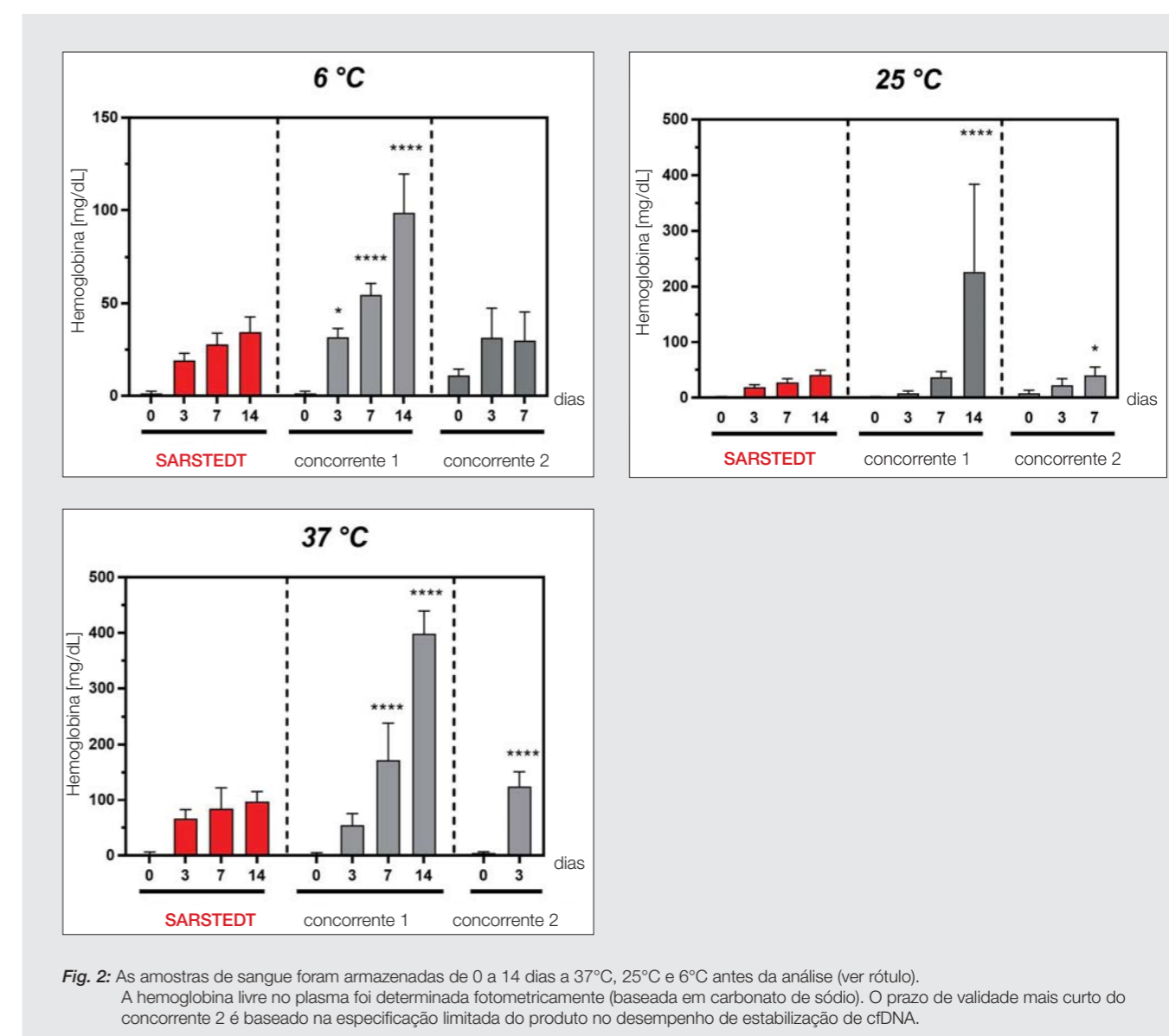


Fig. 2: As amostras de sangue foram armazenadas de 0 a 14 dias a 37°C, 25°C e 6°C antes da análise (ver rótulo). A hemoglobina livre no plasma foi determinada fotometricamente (baseada em carbonato de sódio). O prazo de validade mais curto do concorrente 2 é baseado na especificação limitada do produto no desempenho de estabilização de cfDNA.

Conclusão

A amostragem com o S-Monovette® cfDNA Exact é superior a todos os outros produtos concorrentes testados em relação à potencial hemólise.

Genes de referência analisados

Após o isolamento, S-Monovette® cfDNA Exact cfDNA estabilizado é compatível com todos os métodos de análise (por exemplo, NGS e qPCR). Como a concentração plasmática de cfDNA em doadores saudáveis é baixa (1,8 - 44 ng/mL), os genes de cópia única *ERV-3* e *MSTN* foram analisados

usando qPCR para mostrar que genes com baixo número de cópias ainda podem ser detectados após um longo período de armazenamento. Para garantir uma boa qualidade da amostra, o conteúdo de cfDNA deve permanecer o mais constante possível durante o período de armazenamento.

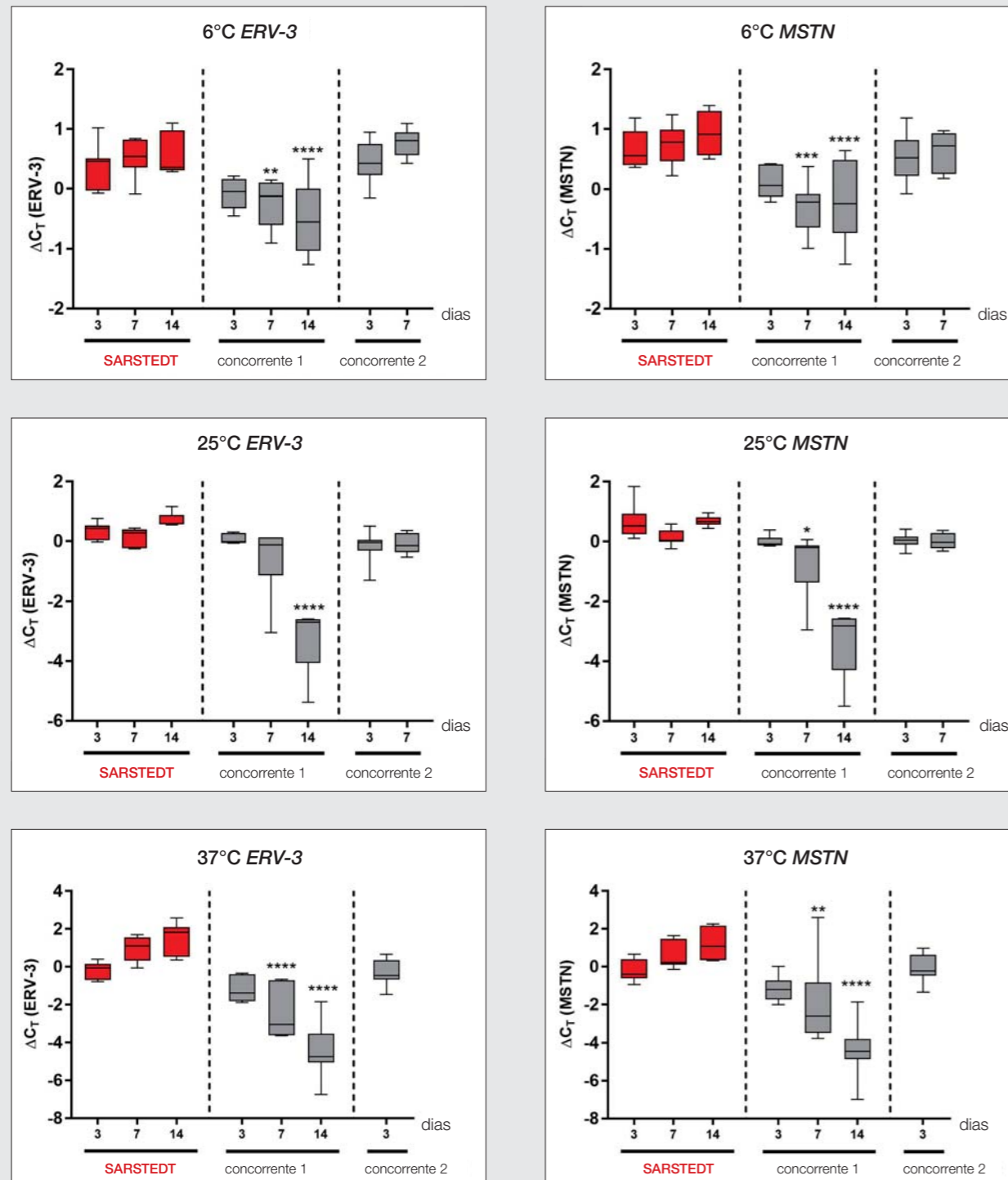


Fig. 3: Análise de PCR em tempo real de *ERV-3* e *MSTN* de S-Monovette® cfDNA Exact para amostras estabilizadas em comparação com produtos de outros fabricantes. Todas as amostras foram isoladas usando o InviMag® Free Circulating DNA Kit/IG e o instrumento InviGenius® PLUS (Invitex Molecular). Os RT-qPCRs foram realizados com Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) em um Mastercycler ep realplex 4S (Eppendorf) ou qTOWER³ (Analytic Jena). Os valores de delta C_T fornecidos representam a diferença entre o valor C_T no momento do exame e as amostras recém-preparadas do dia 0. As estatísticas foram determinadas usando análise de variância bidirecional (ANOVA): *<0,05, **<0,01, ***<0,001 & ****<0,0001

Conclusão

O S-Monovette® cfDNA Exact demonstra um desempenho de estabilização constante ao longo de 14 dias a 6-37°C, enquanto que com os produtos concorrentes foi determinada uma liberação crescente de gDNA ao longo do tempo de armazenamento.

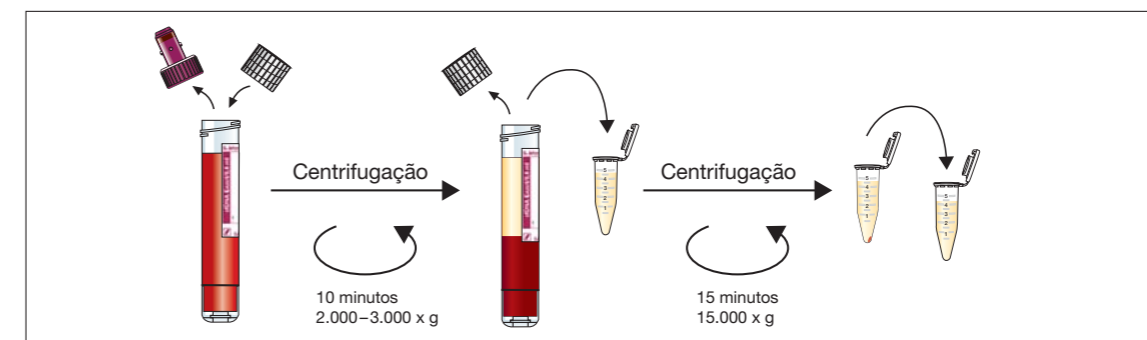


Especificações

Volume da amostra: 9,2 mL (dos quais 8,4 mL de sangue)
 Temperatura de armazenamento antes do enchimento: Temperatura ambiente

Produção de plasma

A separação do plasma para obter o cfDNA é um processo de centrifugação em vários estágios que é realizado, por exemplo, da seguinte forma:



1. Substitua a tampa rosqueada vermelha pela tampa de centrifugação incluída.
2. Centrifugue por 10 min a 2.000 - 3.000 x g em temperatura ambiente.
3. Transfira o Plasma para recipientes de reação (por exemplo, REF 72.706.200 (1,5 mL), 72.695.200 (2,0 mL) ou 72.701.400 (5,0 mL).
4. Centrifugue o plasma por 15 min com 15.000 x g à temperatura ambiente.
5. Transfira o plasma para novos recipientes para isolamento do cfDNA ou para armazenamento (-80°C) até o isolamento.

FLEXÍVEL NA ESCOLHA DO SISTEMA DE ISOLAMENTO



Sistemas de isolamento de cfDNA compatíveis para uso com o S-Monovette® cfDNA Exact

1. Sistemas de isolamento manual

- Kit de Plasma de DNA NucleoSnap®, Macherey-Nagel, REF 740300.50
- NucleoSpin Dx Blood, Macherey-Nagel, REF 740899.50
- QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, Qiagen, REF 55114
- MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit, ThermoFisher Scientific, REF A293192

2. Sistemas de isolamento automatizados

- InviMag Free Circulating DNA Kit/IG, empresa Invitek Molecular, REF 2439320400
- NextPrep-Mag cfDNA Isolation Kit, empresa Perkin Elmer, REF NOVA-3825-03
- Chemagic cfNA 5k Kit special H24, empresa Perkin Elmer, REF CMG-1104
- MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit, ThermoFisher Scientific, REF A293192

Informações do pedido

Número do pedido	Descrição	Embalagem
01.2040.001	S-Monovette® cfDNA Exact*	20 peças por caixa interna/80 peças por caixa externa

* = As tampas de centrifugação estão incluídas no escopo de entrega

Acessório

Número do pedido	Descrição	Embalagem
65.729.100	Tampa rosçada, adequada para tubos Ø 15,3 mm	100 unidades por caixa interna/5.000 unidades por caixa externa
85.1638.235	Agulha Safety-Multify® 21G com tubo de 200 mm e multiadaptador montado	120 peças por caixa interna/480 peças por caixa externa
85.1640.235	Agulha Safety-Multify® 23G com tubo de 200 mm e multiadaptador montado	120 por caixa interna / 480 por caixa externa
85.1642.235	Agulha Safety-Multify® 25G com tubo de 200 mm e multiadaptador montado	120 por caixa interna / 480 por caixa externa
95.1006	Tira de torniquete descartável®	200 por caixa externa
78.898	Recipiente de proteção 126 x 30 mm, com almofada absorvente, sem fecho	50 por caixa interna / 250 por caixa externa
65.679	Tampa rosqueada para recipiente de proteção 126 x 30 mm	50 por caixa interna / 250 por caixa externa
95.900	Caixa de transporte pequena 198 x 107 x 38 mm	50 por caixa externa
95.901	Caixa de transporte pequena 198x107x50 mm	50 por caixa externa
95.902	Caixa de transporte grande 220x170x40 mm	50 por caixa externa

Outros consumíveis para PCR (placas de PCR, correntes e tubos individuais), pontas de pipeta e tubos de reação podem ser encontrados em www.sarstedt.com.

SARSTEDT Ltda.

Rodovia Marechal Rondon, km 126

Avecuia

CEP 18546-412

Porto Feliz – SP

Tel: +55 11 4152 2233

info.br@sarstedt.com

www.sarstedt.com

Em caso de dúvidas:
Teremos prazer em ajudar!

Visite o nosso site: www.sarstedt.com