

Agosto de 2015

Instruções de Utilização do QIASymphony[®] DSP DNA (Manual)



192 (N.º cat. 937236)



96 (N.º cat 937255)

Versão 1



Para utilização em diagnóstico in vitro

QIASymphony DSP DNA Mini Kit

QIASymphony DSP DNA Midi Kit



937236, 937255



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden ALEMANHA



1069185PT



Índice

Utilização prevista	3
Resumo e explicação	3
Princípios do procedimento.....	4
Materiais fornecidos	6
Conteúdo do kit	6
Materiais necessários, mas não fornecidos	7
Avisos e precauções	8
Armazenamento e manuseamento de reagente	12
Componentes do kit.....	12
Colheita e preparação de amostras	13
Procedimento	15
Purificação automatizada no QIAasymphony SP.....	15
Controlo de qualidade	26
Limitações.....	26
Símbolos	27
Guia de resolução de problemas.....	29
Apêndice: Quantificação e determinação da pureza do ADN.....	32
Quantificação do ADN.....	32
Pureza do ADN	33
Informações para encomenda	34

Utilização prevista

O QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit e o QIAAsymphony DSP DNA Midi Kit utilizam tecnologia de partículas magnéticas para o isolamento e purificação automatizada de ADN de amostras biológicas.

Os produtos destinam-se a utilizadores profissionais, tais como técnicos e médicos com formação em técnicas de biologia molecular.

O QIAAsymphony DSP DNA foi concebido para aplicações de diagnóstico in vitro.

Resumo e explicação

Os kits QIAAsymphony DSP DNA destinam-se a ser utilizados apenas em conjunto com o QIAAsymphony SP. Os kits QIAAsymphony DSP DNA fornecem reagentes para a purificação totalmente automatizada e simultânea de ADN total de sangue total humano, da camada leuco-plaquetária (buffy coat), de tecidos e de tecidos FFPE (fixados em formalina e embebidos em parafina), assim como ADN viral de sangue total humano. Contudo, as características de desempenho para cada vírus, tecido ou tecido FFPE não foram estabelecidas e têm de ser validadas pelo utilizador. A tecnologia de partículas magnéticas permite a purificação de ácidos nucleicos de elevada qualidade que não contenham proteínas, nucleases e outras impurezas. Os ácidos nucleicos purificados estão prontos para utilização direta em aplicações a jusante, tais como a amplificação ou outras reações enzimáticas. O QIAAsymphony SP efetua todos os passos do procedimento de purificação. São processadas, numa só corrida, até 96 amostras, em lotes de até 24. Os protocolos de tecido e tecido FFPE requerem um pré-tratamento manual das amostras.

Princípios do procedimento

A tecnologia QIAAsymphony combina a velocidade e a eficiência da purificação de ácidos nucleicos baseada em sílica com o prático manuseamento das partículas magnéticas (Figura 1, abaixo). O procedimento de purificação foi concebido para garantir a manipulação segura e reproduzível de amostras potencialmente infecciosas, e compreende 4 passos: lise, ligação, lavagem e eluição (consulte o fluxograma, pág. 6). O utilizador pode escolher entre vários volumes de eluição.

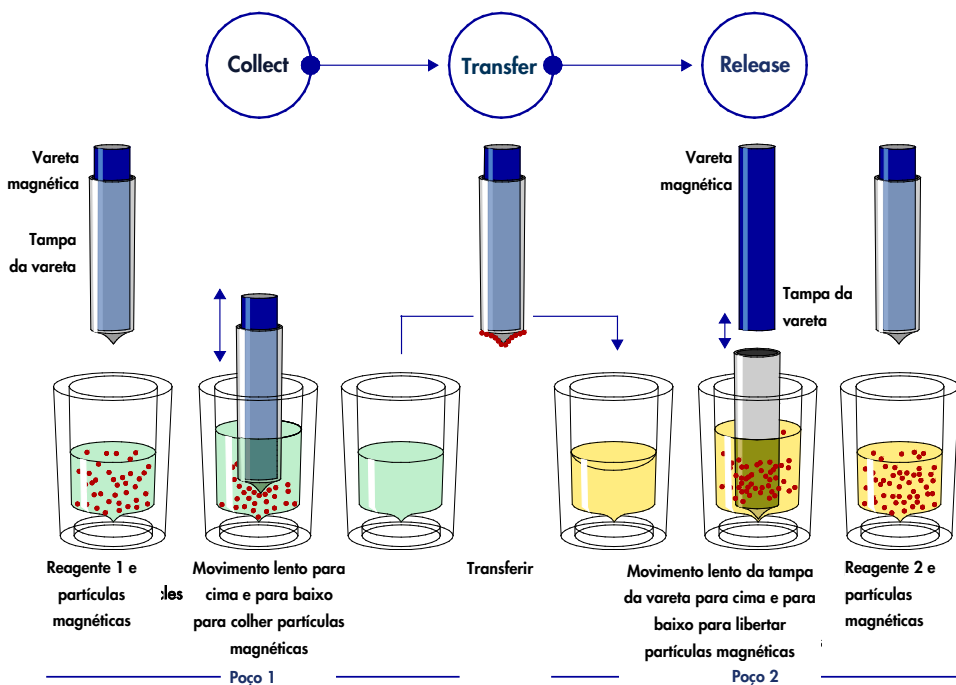
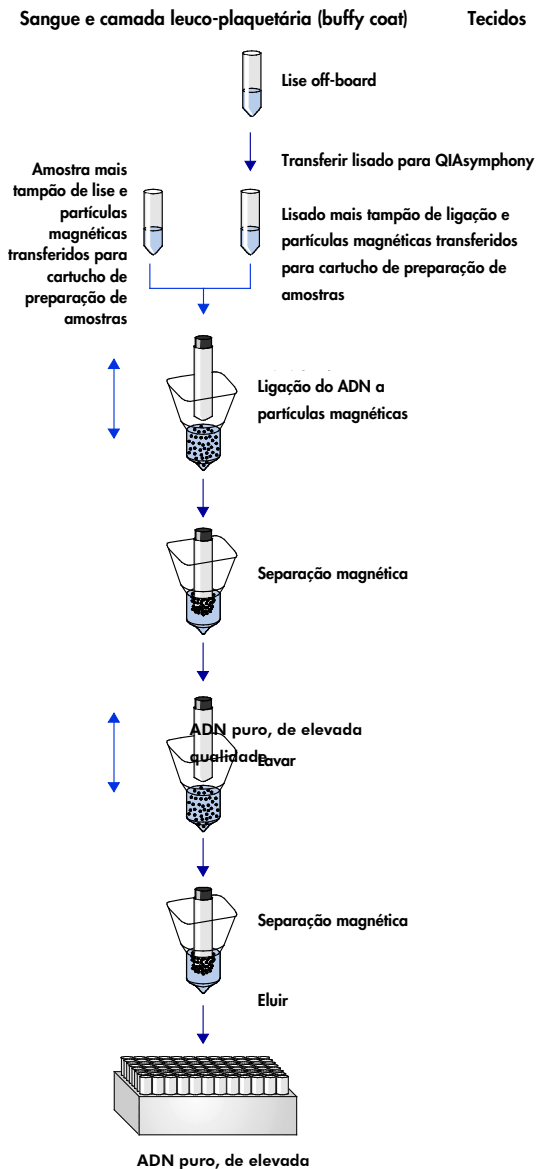


Fig. 1. Esquema de princípio do QIAAsymphony SP. O QIAAsymphony SP processa uma amostra que contém partículas magnéticas da seguinte forma: Uma vareta magnética protegida por uma tampa entra num poço que contém a amostra e atrai as partículas magnéticas. A tampa da vareta magnética é posicionada por cima de outro poço e as partículas magnéticas são libertadas. O QIAAsymphony SP usa uma cabeça magnética que contém uma série de 24

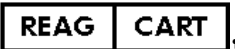

varetas magnéticas, podendo, assim, processar até 24 amostras em simultâneo. Os passos 1 e 2 são repetidos várias vezes durante o processamento de amostras.

Procedimento do QIASymphony



Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

QIAasymphony DSP DNA Kit		Mini	Midi	
N.º de catálogo		937236	937255	
Número de preparações		192	96*	
RC	Reagent Cartridge (Cartucho de reagents) [†]		2	2
ER	Enzyme Rack (Suporte de enzimas)	2	2	
PL	Piercing Lid (Tampa de perfuração)	2	2	
ATE	Buffer ATE (Tampão ATE) (20 ml) [‡]		20 ml	20 ml
RSS	Reuse Seal Set (Conjunto de vedantes reutilizáveis) [§]	2	2	
	Handbook (Manual)	1	1	

* Para preparações 96 x 1000 µl ou 144 x 400 µl.

[†] Contém sais de guanidina. Não compatível com desinfetantes que contenham lixívia. Consultar a página 9 para informações de segurança.

[‡] Contém azida de sódio como conservante.

[§] Um conjunto de vedantes reutilizáveis contém 8 tiras de vedante reutilizáveis.

[¶] Consultar na página **Fehler! Textmarke nicht definiert.** uma lista de símbolos com as respetivas definições.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (SDS) adequadas, disponíveis junto do fornecedor do produto.

- QIASymphony SP
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (Cartuchos de preparação de amostras, de 8 poços) (cat. n.º 997002)
- 8-Rod Covers (Mangas para 8 barras) (cat. n.º 997004)
- Filter-Tips (Pontas com filtro), 200 µl e 1500 µl (cat. n.º 990332 e 997024)
- Tubos de amostras (p. ex., tubos de amostra de 2 ml, com tampas roscadas, da Sarstedt cat. n.º 72.693, ou sem tampas roscadas, da Sarstedt cat. n.º 72.608 ou da Sarstedt cat. n.º 72.694). Os formatos de tubos primários e secundários compatíveis são indicados em www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

RNase isenta de DNase A (para minimizar o conteúdo de ARN)

- Tubos ou placas de eluição. Os formatos de tubos e placas compatíveis com eluição estão listados em www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
- Tampão fosfato-salino (PBS, pode ser necessário para diluir amostras)
- Vórtice
- Opcional: DNase-free RNase A (to minimize RNA content)
- Para materiais adicionais necessários para aplicações de tecido e vírus sangue, consulte as folhas de protocolo em www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Avisos e precauções

Para utilização em diagnóstico in vitro

Ler atentamente todas as instruções antes de utilizar o kit.

Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre um avental de laboratório adequado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consultar as fichas de dados de segurança (SDS) adequadas. Estas estão disponíveis on-line em formato PDF, cómodo e compacto, no endereço www.qiagen.com/safety onde poderá encontrar, visualizar e imprimir as SDSs para cada kit da QIAGEN® e respetivos componentes.



PRECAUÇÃO: NÃO adicione lixívia nem soluções ácidas diretamente aos resíduos provenientes da preparação de amostras.

Os tampões no cartucho de reagente (RC) contêm sais de guanidina, que podem formar compostos altamente reativos quando combinados com lixívia. Se for derramado líquido destes tampões, limpe com detergente laboratorial adequado e água. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, limpe a área afetada primeiro com detergente laboratorial e água e depois com hipoclorito de sódio a 1 % (v/v).

As seguintes advertências de precaução e de perigo aplicam-se aos componentes dos kits QIASymphony DSP DNA.

QSB1



Contém: Brij 58; guanidine thiocyanate; Isopropanol. Perigo! Pode ser perigoso se for inalado ou em contacto com a pele. Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Pode provocar sonolência ou vertigens. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. Líquido e vapor facilmente inflamáveis. Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. Eliminar o conteúdo/ recipiente em instalação aprovada de destruição de resíduos. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): despir/ retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/ tomar um duche. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. - Não fumar. Armazenar em local bem ventilado. Manter o recipiente bem fechado. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/ protecção facial.

MBS

Atenção! Causa uma irritação suave da pele. Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.

Proteinase K



Contém: Proteinase K. Perigo! Causa uma irritação suave da pele. Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. Evitar respirar as poeiras/ fumos/ gases/ névoas/ vapores/ aerossóis. Eliminar o conteúdo/ recipiente em instalação aprovada de destruição de resíduos. Em caso de sintomas respiratórios: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. EM CASO DE INALAÇÃO: em caso de dificuldade respiratória, retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração. Usar protecção respiratória.

QSL1



Contém: guanidine hydrochloride; maleic acid. Atenção! Pode ser perigoso se for engolido ou inalado. Provoca irritação cutânea. Provoca irritação ocular grave. Pode provocar uma reacção alérgica cutânea. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico. Retirar a roupa contaminada e lavar-lo antes de reutilizar. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/ protecção facial

QSW1



Contém: ethanol; guanidine hydrochloride; lithium chloride. Atenção! Pode ser perigoso por ingestão. Provoca irritação cutânea. Provoca irritação ocular grave. Líquido e vapor inflamáveis. Eliminar o conteúdo/ recipiente em instalação aprovada de destruição de resíduos. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico. Retirar a roupa contaminada e lavar-lo antes de reutilizar. Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. - Não fumar. Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/ protecção facial.

QSW2



Contém: ethanol. Perigo! Provoca irritação ocular grave. Líquido e vapor facilmente inflamáveis. Eliminar o conteúdo/ recipiente em instalação aprovada de destruição de resíduos. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico. Manter afastado do calor/faísca/chama aberta/superfícies quentes. - Não fumar. Armazenar em local bem ventilado. Conservar em ambiente fresco. Usar luvas de protecção/ vestuário de protecção/ protecção ocular/ protecção facial.

Armazenamento e manuseamento de reagente

Os kits QIASymphony DSP DNA devem ser armazenados na vertical à temperatura ambiente (15–25°C). As partículas magnéticas nos cartuchos de reagente (RC) permanecem ativas quando armazenadas a esta temperatura. Quando armazenado adequadamente, o kit mantém-se estável até ao prazo de validade impresso na caixa do kit.

Nota: O rótulo na caixa do QIASymphony DSP DNA Kit mostra o prazo de validade do kit. O ficheiro de resultados documenta os prazos de validade apenas para o cartucho de reagente (RC).

Componentes do kit

Os kits QIASymphony DSP DNA contêm solução de proteinase K pronta a utilizar, que pode ser armazenada à temperatura ambiente.

Não armazenar cartuchos de reagentes (RC) a temperaturas inferiores a 15 °C.

Os cartuchos de reagente (RC) parcialmente usados podem ser armazenados durante um máximo de 4 semanas, permitindo a reutilização económica de reagentes e um processamento de amostras mais flexível. Se um cartucho de reagente (RC) estiver parcialmente usado, substitua a tampa do compartimento que contem as partículas magnéticas e feche-o com as tiras de vedante reutilizáveis fornecidas logo depois de ter terminado a corrida do protocolo para evitar a evaporação.

Para evitar que o reagente se evapore, o cartucho de reagente (RC) não deve ficar aberto durante mais de 15 horas (incluindo os tempos das corridas) a uma temperatura ambiente máxima de 30°C.

Os lotes em utilização com baixo número de amostras (<24) vão aumentar o tempo em que o cartucho de reagente (RC) está aberto e os volumes de tampão necessários, reduzindo potencialmente o número total de preparados de amostras possível por cartucho.

Evite a exposição dos cartuchos de reagente (RC) à luz UV (por exemplo, usados para descontaminação), dado que a exposição pode acelerar o envelhecimento dos cartuchos de reagente (RC) e dos tampões.

Colheita e preparação de amostras

Evite a formação de espuma nas amostras ou sobre elas. 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 dar início ao ensaio.

Para mais informações sobre o procedimento automatizado (incluindo informações sobre os tubos de amostra que podem ser usados com protocolos específicos) e pré-tratamentos

específicos de amostras, consulte a respetiva folha de protocolo disponível em www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Procedimento

Purificação automatizada no QIASymphony SP

O QIASymphony SP simplifica e torna mais prática a preparação automatizada de amostras. Amostras, reagentes, consumíveis e eluatos são separados em gavetas diferentes. Basta carregar amostras, reagentes fornecidos em cartuchos especiais e consumíveis em suporte prévio na respetiva gaveta antes de uma corrida. Inicie o protocolo e remova o ADN purificado da gaveta “Eluate” (eluato) depois do processamento. Consulte os manuais do utilizador fornecidos com o instrumento para se inteirar das instruções de funcionamento.

Nota: A manutenção opcional não é obrigatória para o funcionamento do instrumento, mas é altamente recomendada para reduzir o risco de contaminação.

A gama de protocolos disponível está em permanente expansão, e podem ser descarregados gratuitamente mais protocolos QIAGEN em www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Carregamento dos cartuchos de reagente (RC) para a gaveta “Reagents and Consumables” (reagentes e consumíveis)

Os reagentes para a purificação de ADN estão contidos num cartucho de reagentes (RC) (fig. 2). Cada compartimento do cartucho de reagente (RC) contém um determinado reagente, como sejam partículas magnéticas, tampão de lise, tampão de lavagem ou tampão de eluição. Os cartuchos de reagentes (RC) parcialmente utilizados podem voltar a ser fechados com tiras vedantes reutilizáveis, evitando a geração de resíduos por reagentes sobranes no fim do procedimento de purificação.

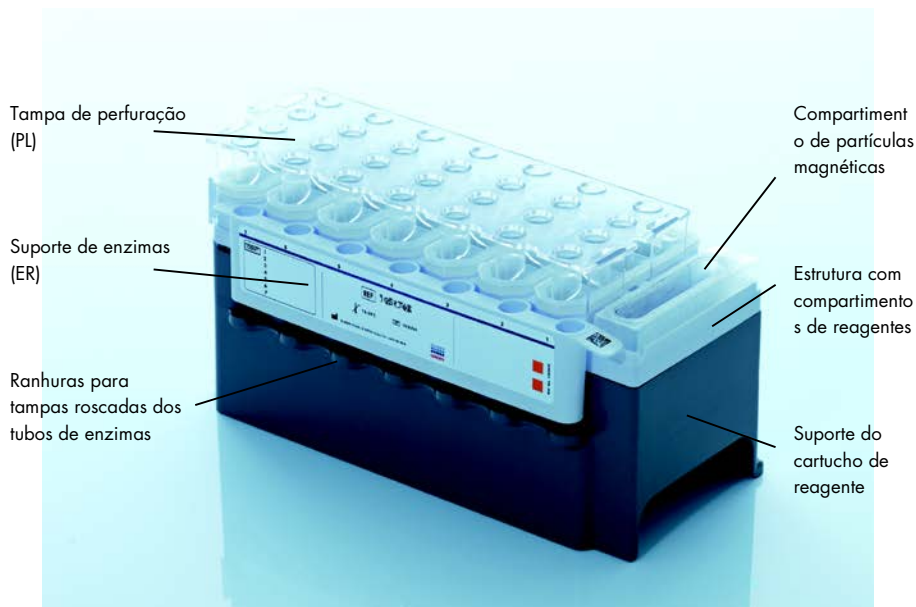


Fig. 2. Cartucho de reagente (RC) QIASymphony. O cartucho de reagente (RC) contém todos os reagentes necessários para a execução do protocolo.

Antes de iniciar o procedimento, assegure-se de que as partículas magnéticas estão completamente ressuspendas. Remova o compartimento de partículas magnéticas da armação do cartucho de reagente, agite vigorosamente em vórtice durante, pelo menos, 3 minutos e volte a colocar na armação do cartucho de reagente antes da primeira utilização. Coloque o cartucho de reagente (RC) no respetivo suporte. Coloque o suporte de enzimas (ER) no suporte do cartucho de reagente. Antes de utilizar um cartucho de reagente (RC) pela primeira vez, coloque a tampa de perfuração (PL) por cima do cartucho de reagente (RC) (fig. 2, acima).

Nota: A tampa de perfuração (PL) é afiada. Cuidado ao colocá-la no cartucho de reagente (RC). Assegure-se de que coloca a tampa de perfuração (PL) no sentido correto no cartucho de reagente (RC).

Após remoção da cobertura da cavidade das partículas magnéticas e do suporte de enzimas, os tubos são abertos (as tampas de rosca podem ser armazenadas em ranhuras especiais para o efeito, ver fig. 2 acima), o cartucho de reagente (RC) é subsequentemente carregado na gaveta de "Reagents and Consumables".

Os cartuchos de reagente (RC) parcialmente usados podem ser armazenados até voltarem a ser necessários, ver "Armazenamento e manuseamento de reagente" pág. 12.

Carregamento de utensílios de plástico na bandeja de "Reagents and Consumables"

Cartuchos de preparação de amostras, tampas de 8 varetas (ambas pré-embaladas nas caixas de unidades) e pontas com filtro descartáveis (pontas de 200 µl fornecidas em suportes azuis, pontas de 1500 µl fornecidas em suportes cinzentos) são carregados na gaveta "Reagents and Consumables" (reagentes e consumíveis).

Nota: Certifique-se de que as coberturas das caixas de unidades são removidas antes de carregar as caixas na bandeja "Reagents and Consumables".

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

As ranhuras do suporte de pontas na bancada QIASymphony SP podem ser preenchidas com qualquer tipo de suporte de pontas. O QIASymphony SP identifica o tipo de pontas carregado durante a leitura do conteúdo (inventário).

Nota: Não reponha os suportes de pontas ou caixas de unidades para cartuchos de preparação de amostras ou mangas de 8 barras antes de dar início a outro protocolo. ○

QIAsymphony SP pode utilizar suportes de pontas e caixas de unidades parcialmente usadas.

Para saber quais os consumíveis necessários, consulte a respetiva folha de protocolo disponível em www.qiagen.com/goto/dspdnakits. Para informações para encomenda de material de plástico, consulte a pág. 34.

Carregamento da bandeja “Waste” (resíduos)

Os cartuchos de preparação de amostras e as tampas de 8 varetas usados durante uma corrida voltam a ser colocados no suporte em caixas unitárias vazias na gaveta “Waste”. Assegure-se de que a gaveta “Waste” contém caixas unitárias vazias suficientes para os resíduos de plástico criados durante a corrida do protocolo.

Nota: Assegure-se de que as tampas das caixas unitárias são retiradas antes de carregar as caixas unitárias para a gaveta “Waste”. Se estiver a usar caixas de tampas de 8 varetas para recolher cartuchos de preparação de amostras e tampas de 8 varetas usados, assegure-se de que o distanciador de caixas foi removido.

Tem de se prender um saco para pontas com filtro usadas na parte da frente da gaveta “Waste”.

Nota: O sistema não verifica a presença de um saco para pontas usadas. Assegure-se de que o saco para pontas usadas está bem preso antes de iniciar uma corrida do protocolo. Para mais informações, consulte os manuais do utilizador fornecidos com o instrumento. Esvazie o saco para pontas depois de terem sido processadas 96 amostras, no máximo, para evitar um congestionamento de pontas.

Um recipiente de recolha de resíduos recolhe resíduos líquidos criados durante o procedimento de purificação. A gaveta “Waste” só pode ser fechada se o recipiente de recolha de resíduos estiver no devido local. Elimine os resíduos líquidos conforme os

regulamentos de segurança e ambientais locais. Não esterilize em autoclave o frasco cheio de resíduos. Esvazie o frasco de resíduos depois de terem sido processadas 96 amostras, no máximo.

Carregar a gaveta “Eluate” (eluato)

Carregue o suporte de eluição necessário para a gaveta “Eluate”. Uma vez que o armazenamento a longo prazo de eluatos na gaveta “Eluate” pode provocar a evaporação de eluatos, recomendamos vivamente a utilização da posição de refrigeração. Use apenas a “Elution slot 1” (ranhura de eluição 1) com o adaptador de arrefecimento correspondente.

Leitura do conteúdo (inventário)

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

Preparação do material de amostra

Os kits QIASymphony DSP DNA destinam-se à purificação automatizada de ADN total de sangue total humano, da camada leuco-plaquetária (buffy coat), de tecido e amostras de tecido fixadas em formalina e embebidas em parafina (FFPE), assim como de ADN viral de sangue total humano (Tabela 1, página 21).

Evite a formação de espuma nas amostras ou sobre elas. 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 dar início ao ensaio. Os protocolos de tecido e tecido FFPE requerem um pré-tratamento manual das amostras.

Para mais informações sobre o procedimento automatizado (incluindo informações sobre os tubos de amostra que podem ser usados com protocolos específicos) e pré-tratamentos específicos de amostras, consulte a respetiva folha de protocolo disponível em www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Yield of purified DNA

Rendimento do ADN purificado

O rendimento de ADN depende do tipo de amostra, do número de células nucleadas na amostra, da qualidade do material inicial e do protocolo usado para isolar o ADN. A eluição em volumes mais pequenos aumenta a concentração final de ADN no eluato, mas reduz ligeiramente o rendimento global de ADN. Recomendamos a utilização de volume de eluição apropriado para a aplicação a jusante pretendida. Os kits QIASymphony DSP DNA copurificam o ARN e o ADN se ambos estiverem presentes na amostra. Para minimizar o conteúdo de ARN na amostra, adicionar RNase A à mesma no passo indicado no respetivo protocolo de pré-tratamento. Para mais informações, consulte as folhas de protocolo em www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Armazenamento do ADN

O ADN purificado pode ser guardado a 2–8°C durante até 5 dias. Para o armazenamento a longo prazo, guarde a –20°C ou –80°C.

Tabela 1. Visão geral do protocolo

Amostra	Volume da amostra (µl)	Volume da eluição (µl)	Kit	Protocolo QIASymphony SP
Sangue total	200	50, 100, 200	Mini	Blood 200 DSP
	400	100, 200, 400	Midi	Blood 400 DSP
	1000	200, 400, 500	Midi	Blood 1000 DSP
Camada leucocitária	200	200, 300, 400	Mini	DNA Buffy Coat 200 DSP
	400	200, 400	Midi	DNA Buffy Coat 400 DSP
Vírus sangue	200	60, 85, 110, 165	Mini	VirusBlood200 DSP
Tecido	200	50, 100, 200,400	Mini	Tissue LC 200 DSP
	200	100, 200, 400	Mini	Tissue HC 200 DSP

Aspetos importantes antes do início do procedimento

- Assegure-se de que está familiarizado com o funcionamento do QIASymphony SP. Consulte os manuais do utilizador fornecidos com o instrumento para se inteirar das instruções de funcionamento.
- A manutenção opcional não é obrigatória para o funcionamento do instrumento, mas é altamente recomendada para reduzir o risco de contaminação.
- Antes de iniciar o procedimento, leia “Princípios do procedimento” a partir da pág. 4.
- Assegure-se de que está familiarizado com a folha de protocolo correspondente ao procedimento que pretende usar (www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- Antes de utilizar um cartucho de reagente pela primeira vez, verifique se os tampões QSL1 e QSB1 não contêm um precipitado. Se necessário, retire os compartimentos que contêm os tampões QSL1 e QSB1 do cartucho de reagente e incube, durante 30 minutos, a 37°C, agitando, de vez em quando, para dissolver o precipitado. Assegure-se de que volta a colocar os compartimentos nas posições corretas. Se o cartucho de reagente já estiver perfurado, assegure-se de que as cavidades são seladas com tiras

vedantes reutilizáveis e proceda à incubação do cartucho de reagente completo, durante 30 minutos a 37°C com agitação ocasional em banho-maria.*

- Evite agitar vigorosamente o cartucho de reagente (RC) para não se formar espuma, que poderia prejudicar a deteção do nível de líquido.

Aspetos importantes antes de iniciar o procedimento

- Antes de iniciar o procedimento, assegure-se de que as partículas magnéticas estão completamente ressuspendas. Agite vigorosamente em vórtice o compartimento que contem as partículas magnéticas durante, pelo menos 3 minutos, antes da primeira utilização.
- Assegure-se de que a tampa de perfuração está colocada no cartucho de reagente e que a tampa do depósito de partículas magnéticas foi removida ou, no caso de usar um cartucho de reagente parcialmente usado, assegure-se de que as tiras de vedante reutilizáveis foram retiradas.
- Certifique-se de que abre os tubos de enzimas.
- Se as amostras tiverem código de barras, oriente-as no transportador de tubos, de forma a que os códigos de barras fiquem virados para o respetivo leitor à esquerda do QIASymphony SP.
- Para informações sobre tubos de amostra compatíveis com um determinado protocolo, consulte a respetiva lista do material de laboratório (disponível em www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- Para informações sobre volumes mínimos para amostras em tubos primários e secundários para um determinado protocolo, consulte a respetiva lista do material de

* Assegurar que os instrumentos foram objeto de verificação, manutenção e calibração regulares, de acordo com as instruções do fabricante.

laboratório (disponível em www.qiagen.com/goto/dspdnakits). Estas informações também indicam que tubos podem ser usados para os vários protocolos.

Protocolo: Purificação do ADN

Segue-se um protocolo geral para uso de kits QIASymphony DSP DNA. Podem ser obtidas informações detalhadas para cada protocolo, incluindo volumes e tubos, nas folhas de protocolo que podem ser descarregadas em www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

1. Feche todas as gavetas e a hotte.
2. Ligar o QIASymphony SP e aguardar até que o ecrã **Sample Preparation** (Preparação da amostra) apareça e o procedimento de inicialização seja concluído.

O interruptor de alimentação está localizado no canto inferior esquerdo do QIASymphony SP.

3. Inicie a sessão do instrumento.
4. Assegure-se de que a gaveta "Waste" está devidamente preparada e realize uma leitura do conteúdo (inventário) da gaveta "Waste", incluindo canal de pontas e resíduos líquidos. Se necessário, substitua o saco para pontas usadas.
5. Carregue o suporte de eluição necessário para a gaveta "Eluate".

Não carregue uma placa de 96 poços na "Elution slot 4" (ranhura de eluição 4).

Usar "Elution slot 1" com o adaptador de arrefecimento correspondente.

Ao usar uma placa de 96 poços, assegure-se de que está corretamente orientada, pois, se não estiver, pode causar uma mistura de amostras na análise a jusante.

Ao utilizar o suporte de Elution Microtubes CL (Microtubos de eluição CL), retirar a parte de baixo rodando o suporte até que se solte.

6. Load the required reagent cartridge(s) and consumables into the "Reagents and Consumables".
Carregue o(s) cartucho(s) de reagente e consumíveis necessários na gaveta "Reagents and Consumables".
7. Efetue uma inventariação da gaveta "Reagents and Consumables".

8. Coloque as amostras no respetivo transportador e carregue-as para a gaveta “Sample” (amostra).

IMPORTANTE: Para as aplicações VirusBlood200, o(s) tubo(s) contendo o controlo interno–mistura de tampão ATE deve(m) ser colocado(s) na ranhura A na bandeja “Sample”.

Para obter mais informações sobre a preparação da mistura e a utilização de um controlo interno, consulte a respetiva folha de protocolo (disponível em www.qiagen.com/goto/dspdnakits).

9. Introduza através do ecrã táctil as informações necessárias para cada lote de amostras a processar.

Introduza as seguintes informações:

Informações das amostras (dependendo dos suportes de amostras usados).

Protocolo que se pretende correr (conjunto de controlo de ensaio).

Volume de eluição e posição de saída.

Para as aplicações VirusBlood200: o(s) tubo(s) contendo o(s) controlo(s) interno(s)

Depois de terem sido introduzidas as informações sobre o lote, o estado muda de “CARREGADO” para “EM FILA DE ESPERA”. Assim que um lote fica em fila de espera, surge o botão “Run” (executar).

10. Prima o botão “Run” para iniciar o procedimento de purificação.

Todos os passos de processamento são totalmente automatizados. No final da corrida do protocolo, o estado do lote muda de “RUNNING” (EM EXECUÇÃO) para “COMPLETED” (CONCLUÍDO).

11. Recupere o suporte de eluição que contem os ácidos nucleicos purificados da gaveta “Eluate”.

12. O ADN está pronto a usar ou pode ser guardado a 2–8°C, –20°C ou –80°C.

Recomendamos que se retire a placa de eluatos da gaveta “Eluate” assim que terminar a corrida. Dependendo da temperatura e da humidade, as placas de eluatos deixadas

no QIAasymphony SP após o teste terminar podem passar por condensação ou evaporação.

Regra geral, as partículas magnéticas não são transportadas para eluatos. Se ocorrer o "carryover", as partículas magnéticas nos eluatos não irão afetar a maior parte das aplicações a jusante.

Se as partículas magnéticas precisarem de ser removidas antes da realização das aplicações a jusante, os tubos ou as placas que contêm eluatos devem ser colocados primeiro num ímã adequado e os eluatos transferidos para um tubo limpo (ver apêndice, pág. 32).

São criados ficheiros de resultado para cada placa de eluição.

13. Se um cartucho de reagente só estiver parcialmente usado, feche-o com as tiras de vedante reutilizáveis e feche os tubos que contêm proteinase K com tampas roscadas logo depois de ter terminado a corrida do protocolo para evitar a evaporação.

Nota: Para mais informações sobre o armazenamento de cartuchos de reagente (RC) parcialmente usados, ver "Armazenamento e manuseamento de reagente", pág. 12.

14. Eliminar os tubos de amostras usados e resíduos de acordo com os regulamentos de segurança locais.

Consultar a página 7 para informações de segurança.

15. Limpe o QIAasymphony SP.

Siga as instruções de manutenção nos manuais do utilizador fornecidos com o instrumento. Assegure-se de que limpa regularmente as guardas das pontas para minimizar o risco de contaminação cruzada.

16. Feche as gavetas do instrumento e desligue o QIAasymphony SP.

Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão da Qualidade Total, certificado por norma ISO da QIAGEN, todos os lotes dos kits QIASymphony DSP DNA Mini e Midi são testados face a especificações predeterminadas para garantir uma qualidade constante do produto.

Limitações

O desempenho do sistema foi estabelecido em estudos de avaliação do desempenho que incluíam a purificação de ADN total de sangue total humano, da camada leuco-plaquetária (buffy coat), de tecidos e de tecidos FFPE, assim como de ADN viral de sangue total humano.









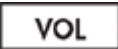



É da responsabilidade do utilizador validar o desempenho do sistema para quaisquer procedimentos utilizados no seu laboratório que não estejam abrangidos pelos estudos de avaliação de desempenho da QIAGEN.




Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados do diagnóstico, devem ser utilizados os controlos adequados para aplicações a jusante. Para uma validação mais aprofundada, são recomendadas as diretrizes da International Conference on Harmonisation of Technical Requirements (ICH) descritas em *ICH Q2 (R1) Validation Of Analytical Procedures* (Validação de Procedimentos Analíticos): São recomendados o Texto e a Metodologia.

Quaisquer resultados de diagnóstico gerados têm de ser interpretados juntamente com outros resultados clínicos ou laboratoriais.

Símbolos

Os símbolos na tabela seguinte são utilizados nestas instruções de utilização.

Símbolo	Definição do símbolo
 <N>	Contém reagentes suficientes para <N> preparações de amostras
	Para utilização até
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Número de catálogo
	Número de lote
	Número do material
	Componentes
	Número
Rn	R é a revisão das Instruções de Utilização (Manual), n é o número da revisão
	Volume
	Limites de temperatura
	Fabricante
	Utilizar apenas com

Símbolo	Definição do símbolo
EC REP	Consulte as instruções de utilização
	Contém
CONT	Número de poços
WELL	Isopropanol
REAG CART	Proteinase K
ELU BUF	Tiocianato de guanidina
IPA	Cloridrato de guanidina
PROTK	Etanol
GITC	Acido maleico
GuHCL	BRIJ 58
EtOH	Cloreto de lítio
MALEIC ACID	Número do item de comércio mundial
BRIJ 58	Cuidado
LiCl	Aresta viva
GTIN	Volume
	Limites de temperatura
	Fabricante

Guia de resolução de problemas

Este guia de resolução de problemas pode ser útil para resolver qualquer problema que possa surgir. Para obter 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 a responder a qualquer questão que possa ter sobre as informações ou protocolos constantes neste manual ou sobre as tecnologias de amostragem e ensaio (para informações de contacto, consulte o verso do manual ou visite www.qiagen.com).

Comentários e sugestões

Manuseamento geral

Mensagem de erro visualizada no ecrã tátil	Se for mostrada uma mensagem de erro durante uma corrida do protocolo, consulte os manuais do utilizador fornecidos com o instrumento.
--	--

Precipitado no compartimento de reagente de um cartucho aberto

- | | |
|--|---|
| a) Buffer evaporation (evaporação do tampão) | O excesso de evaporação pode levar a uma maior concentração de sal em tampões. Descartar o cartucho de reagente (RC). Assegure-se de que sela os depósitos de tampão de um cartucho de reagente (RC) parcialmente usado com tiras de vedante reutilizáveis, no caso de não estar a ser utilizado para purificação. |
| b) Storage of reagent cartridge (RC) (Armazenamento do cartucho de reagente) | O armazenamento do cartucho de reagente (RC) abaixo de 15°C pode levar à formação de precipitados. Se necessário, retire os compartimentos que contêm os tampões QSL1 e QSB1 do cartucho de reagente (RC) e incube em banho-maria* durante 30 minutos a 37 °C agitando de vez em quando para dissolver o precipitado. Assegure-se de que volta a colocar os compartimentos na posição correta. Se o cartucho de reagente (RC) já estiver perfurado, assegure-se de que os compartimentos voltam a ser fechados com tiras de vedante reutilizáveis e incube todo o cartucho de reagente (RC), durante 30 minutos, a 37 °C agitando, de vez em quando, em banho-maria*. |

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

Comentários e sugestões

Rendimento de ADN baixo

- | | |
|---|---|
| a) As partículas magnéticas não foram completamente suspensas | Antes de iniciar o procedimento, assegure-se de que as partículas magnéticas estão completamente ressuspensas. Agite em vórtice durante, pelo menos, 3 min. antes da utilização. |
| b) As amostras de sangue ou de camada leucocitária congeladas não foram devidamente misturadas após descongelamento | Descongele as amostras de sangue ou de camada leucocitária congeladas agitando suavemente para garantir uma mistura uniforme. |
| c) Lise incompleta da amostra. | Antes de usar, verifique se os tampões QSL1 e QSB1 não contêm precipitados. Se necessário, remover as cavidades que contêm os tampões QSL1 e QSB1 do cartucho de reagente (RC) e incubar em banho-maria durante 30 minutos, a 37 °C, com agitação ocasional para dissolver o precipitado. Se o cartucho de reagente (RC) já estiver perfurado, assegure-se de que as cavidades são seladas com tiras vedantes reutilizáveis e proceda à incubação do cartucho de reagente completo (RC) durante 30 minutos a 37°C, agitando, de vez em quando, em banho-maria.* |
| d) Digestão incompleta de amostras de tecido | Assegure-se de que o tecido foi completamente digerido alargando o tempo de incubação com proteinase K. |
| e) Obstrução da ponta da pipeta devido a material insolúvel | O material insolúvel não foi retirado da amostra antes do início do procedimento de purificação QIAsymphony. Se necessário, use procedimentos de pré-tratamento, tal como descrito nas folhas de protocolo correspondentes, por exemplo, para materiais de amostra viscosos. As folhas de protocolo estão disponíveis em www.qiagen.com/goto/dspdnakits . |
| f) Má preparação da camada leucocitária ao usar protocolo de camada leucocitária | Assegure-se de que a fração de leucócitos é recolhida de forma eficaz. |
| g) Contagem baixa de leucócitos na amostra de sangue total usada como material inicial para preparação da camada leucocitária | Se usar o protocolo da camada leucocitária, aumente o volume de sangue total usado e mantenha o volume de leucócitos recolhidos constante. |

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

Comentários e sugestões

- h) Lise incompleta dos tecidos Se o lisado contiver material insolúvel, prolongar o tempo de incubação de proteinase K.
- i) O pellet perdeu-se durante o pré-tratamento FFPE com xileno/etanol Observe as amostras cuidadosamente durante o pré-tratamento.

O ADN não atua favoravelmente em reações enzimáticas

- a) Insufficient DNA used in downstream application (ADN insuficiente utilizado em aplicação a jusante) Quantifique o ADN purificado por medição espectrofotométrica da absorvância a 260 nm (ver o apêndice, pág. 32).*
- b) ADN em excesso utilizado em aplicação a jusante O ADN em excesso pode inibir algumas reações enzimáticas. Quantifique o ADN purificado por medição espectrofotométrica da absorvância a 260 nm (ver o apêndice, pág. 32).*

O rácio A_{260}/A_{280} para ADN purificado é baixo

A leitura da absorvância a 320 nm não foi subtraída às leituras da absorvância a 260 nm e 280 nm Para corrigir a presença de partículas magnéticas no eluato, deve ser efetuada e subtraída uma leitura da absorvância a 320 nm às leituras de absorvância obtidas a 260 nm e 280 nm (ver apêndice, pág. 32).*

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

Apêndice: Quantificação e determinação da pureza do ADN

Quantificação do ADN

A concentração de ADN deve ser determinada através da medição da absorvância a 260 nm (A_{260}) num espectrofotómetro. As leituras de absorvância a 260 nm devem situar-se entre 0,1 e 1,0 para serem precisas. A absorvância de 1 unidade a 260 nm corresponde a 50 µg de DNA por mililitro ($A_{260} = 1 = 50 \mu\text{g/ml}$).

Use o tampão ATE para diluir as amostras e para calibrar o espectrofotómetro.

O rácio entre os valores de absorvância a 260 nm e 280 nm dá uma estimativa da pureza do ADN (ver "Pureza do ADN" na pág. 33).

Meça a absorvância a 320, 280 e 260 nm. Subtraia a leitura da absorvância obtida a 320 nm às leituras obtidas a 260 e 280 nm para corrigir a potencial presença de leitura do fundo.

Use a seguinte fórmula para calcular a concentração e o rendimento do ADN:
Concentração da amostra de ADN = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{fator de diluição}$.
Quantidade total de ADN purificado = concentração x volume da amostra em mililitros.

Se as partículas magnéticas tiverem sido transportadas no eluato e puderem afetar a aplicação a jusante (p. ex., o ADN purificado A deve ser analisado por sequenciação capilar fluorescente), o tubo que contém o eluato deve ser aplicado primeiro num separador magnético adequado e o eluato transferido para um tubo limpo (consulte abaixo).

Se as partículas magnéticas precisarem de ser removidas, aplique o tubo que contém o ADN num separador magnético adequado (p. ex., QIAGEN 12-Tube Magnet, cat. n.º 36912) até as partículas magnéticas se separarem. Se o ADN estiver em microplacas, aplique a microplaca num separador magnético adequado (p. ex., QIAGEN 96-Well Magnet Type A, cat. n.º 36915) até as partículas magnéticas se separarem. Se não estiver disponível um separador magnético adequado, centrifugue o tubo que contém o ADN durante 1 minuto à velocidade máxima numa microcentrifuga para formar um pellet de todas as partículas magnéticas restantes.

Nota: Para a quantificação mais confiável e exata possível do ADN através da medição da absorção a 260 nm, é recomendável diluir a amostra no tampão de eluição correspondente. A diluição da amostra na água pode levar a valores imprecisos. O tampão de eluição apresenta uma elevada absorção a 220 nm, o que pode levar a valores altos de absorção de fundo quando o ponto zero do espectrofotómetro não foi devidamente regulado. A evaporação de eluatos aumenta potencialmente o risco de impacto na medição, especialmente quanto as baixas quantidades de eluatos são usadas não diluídas. É fornecido um tampão de eluição extra para pôr a zero o espectrofotómetro num frasco em separado com kits QIAsymphony DSP DNA.

Pureza do ADN

A pureza é determinada calculando o rácio da absorvância corrigida a 260 nm em relação à absorvância corrigida a 280 nm, ou seja, $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. O ADN puro possui um rácio A_{260}/A_{280} de 1,7–1,9.

Informações para encomenda

Produto	Índice	N.º cat.
QIASymphony DSP DNA Mini Kit (192)	inclui 2 cartuchos de reagentes e suportes e acessórios de enzimas	937236
QIASymphony DSP DNA Midi Kit (96)	inclui 2 cartuchos de reagentes e suportes e acessórios de enzimas	937255
Related products		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml de tampão ATL para usar com protocolos de tecido QIASymphony	939016
Deparaffinization Solution (1 x 50 ml)	1 x 50 ml de solução de desparafinização para usar com os protocolos de tecido FFPE QIASymphony	939018
Accessory Trough (10)	Compartimento de acessórios para usar com o QIASymphony SP	997012
Reagent Cartridge Holder (2)	Suporte do cartucho de reagente para usar com o QIASymphony SP	997008
Tube Insert, 2 ml, v2, sample carrier, Qsym	Adaptador de tubo secundário (para tubos de tampa roscada de 2 ml) para usar com o transportador de tubos QIASymphony	9242083
Tube Insert, 11 mm, Revision, sample carrier, Qsym	Adaptador de tubo primário (11 mm) para usar com o transportador de tubos QIASymphony	9242057
Tube Insert, 13 mm, sample carrier, Qsym	Adaptador de tubo primário (13 mm) para usar com o transportador de tubos QIASymphony	9242058
Cooling Adapter, 2 ml, V2,	Adaptador de refrigeração para tubos	9020674

Qsym	de tampa roscada de 2 ml. Para usar na gaveta "Eluate" do QIASymphony	
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Adaptador de refrigeração para suportes EMT. Para usar na gaveta "Eluate" do QIASymphony	9020730
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartuchos de preparação de amostras de 8 poços para usar com o QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	Tampas de 8 varetas para usar com QIASymphony SP/AS	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Pontas com filtro descartáveis, em suporte; (8 x 128). Para usar com o QIAcube® and the QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Pontas com filtro descartáveis, em suporte; (8 x 128). Para uso com o QIASymphony SP	997024
Tip Disposal Bags (15)	Sacos para pontas usadas para usar com o QIASymphony SP	9013395
12-Tube Magnet	Ímã para separar partículas magnéticas em tubos de 12 x 1,5 ml ou 2 ml	36912
96-Well Magnet Type A	Ímã para separar partículas magnéticas em placas de 96 poços, 2 x microplatas de 96 poços FB	36915
S-Blocks (24)	Blocos de 96 poços com poços de 2,2 ml, 24 por embalagem	19585
Reuse Seal Set (20)	Conjuntos de vedantes reutilizáveis para selar cartuchos de reagentes QIASymphony parcialmente usados	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Tubos de polipropileno não estéreis (capacidade máxima de 0,85 ml,	19588

QIAsymphony SP

menos de 0,7 ml de capacidade de armazenamento, 0,4 ml de capacidade de eluição); 2304 em suportes de 96; inclui tiras de tampas

Módulo de preparação de amostras QIAsymphony, 1 ano de garantia em peças e mão-de-obra

9001297

Para informações atuais sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consulte o respetivo manual do kit QIAGEN ou do utilizador. Os manuais do kit QIAGEN e do utilizador estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser pedidos à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Esta página foi deixada intencionalmente em branco

Acordo de licença limitada para os kits QIASymphony DSP DNA

A utilização deste produto significa a aceitação por parte de qualquer comprador ou utilizador do produto segundo os seguintes termos:

1. O produto só pode ser usado em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e este manual e apenas com os componentes contidos no kit. A QIAGEN não concede qualquer licença ao abrigo da sua propriedade intelectual para usar ou incorporar os 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 utilizadores QIAGEN para utilizadores QIAGEN. Estes protocolos não foram devidamente testados nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece qualquer garantia de que os mesmos não infrinjam direitos de terceiros.
2. À exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não emite qualquer garantia de que este Kit e/ou a sua utilização ou utilizações não infrinjam os direitos de terceiros.
3. Este kit e os seus componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, renovados ou ser objeto de revenda.
4. A QIAGEN recusa especificamente qualquer outra licença, expressa ou implícita, à exceção das expressamente declaradas.
5. O comprador e utilizador do kit concorda em não tomar nem permitir que qualquer outro tome medidas que possam conduzir a ou facilitar qualquer dos atos acima proibidos. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições deste Acordo de Licença Limitada em qualquer Tribunal e irá recuperar todos os seus custos legais e de investigação, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir este Acordo de Licença Limitada ou qualquer dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao Kit e/ou seus componentes.

Para os termos de licença atualizados, consultar www.qiagen.com.

Marcas registadas: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAcube® [QIAGEN Group]; Sarstedt® [Sarstedt AG & Co.]. Os nomes registados, as marcas comerciais, etc. utilizados neste documento, quando não assinalados como tal, não devem ser considerados como não protegidos por lei. 08/2015 HB-0977-004

© 2012–2015 QIAGEN Todos os direitos reservados.

Ordering www.qiagen.com/contact | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com