

# Instruções de utilização do QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA Blood Mini Kit (características de desempenho)

Versão 3

**IVD**

Para utilização em diagnóstico in vitro

Utilizar em conjunto com QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



**REF**

61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemanha

R1

As características de desempenho estão disponíveis eletronicamente e podem ser encontradas no separador de recursos da página do produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

## Introdução geral

O QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit utiliza a tecnologia de membrana de sílica (tecnologia QIAamp) para o isolamento e a purificação do ADN genómico de amostras biológicas.

Os procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini, que foram concebidos para permitir o processamento simultâneo de várias amostras de sangue, produzem ADN puro pronto para ser utilizado. Estes procedimentos são adequados para serem utilizados com amostras de sangue total fresco ou congelado, tratado com citrato ou EDTA.

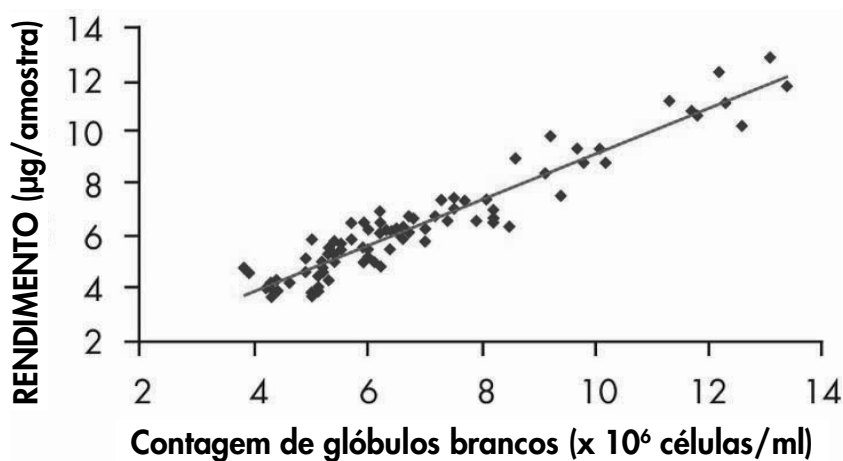
Os procedimentos de centrifugação e vácuo simples do QIAamp DSP são adequados para o processamento simultâneo de várias amostras. Alguns dos procedimentos de centrifugação do QIAamp podem ser totalmente automatizados no QIAcube® Connect MDx para uma maior padronização e facilidade de utilização. O QIAcube Connect MDx realiza o isolamento e a purificação automatizados de ácidos nucleicos. Pode processar até 12 amostras em cada execução.

## Características de desempenho

**Nota:** As características de desempenho são altamente dependentes de vários fatores e está relacionada com a aplicação a jusante específica. As características de desempenho foram estabelecidas para o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit em conjunto com aplicações a jusante exemplares. No entanto, métodos para isolar ácidos nucleicos de espécimes biológicos são utilizados como interface para múltiplas aplicações a jusante e parâmetros de desempenho tais como a contaminação cruzada ou a precisão de execução precisam de ser estabelecidos para qualquer fluxo de trabalho como parte do desenvolvimento da aplicação a jusante. Assim, o utilizador é responsável por validar a totalidade do fluxo de trabalho para estabelecer parâmetros de desempenho adequados.

### Desempenho básico e compatibilidade com várias aplicações a jusante

O desempenho básico do procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini foi determinado para sangue de doadores saudáveis com uma contagem de glóbulos brancos de  $3,8 \times 10^6$  para  $1,34 \times 10^7$  células/ml (ver Figura 1).



**Figura 1. Rendimento observado utilizando o sistema de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini com um volume de eluição de 200 µl.** A contagem de glóbulos brancos de doadores saudáveis foi determinada e situou-se dentro do intervalo de  $3,8 \times 10^6$  a  $1,34 \times 10^7$  células/ml. Purificou-se ADN a partir das amostras de sangue utilizando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini com um volume de eluição de 200 µl. Oitenta e sete triplicados de amostras foram processados.

A quantidade de DNA purificado resultante do procedimento do Kit QIAamp DSP DNA Blood Mini, depende da quantidade de glóbulos brancos contidas em cada amostra de sangue. Utilizando o procedimento de centrifugação ou vácuo, o ADN genómico é purificado a partir de 200 µl de amostras de sangue de doadores saudáveis. Podem ser utilizados vários tubos primários e anticoagulantes diferentes para realizar a colheita das amostras de sangue para os procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini (Tabela 1).

Tabela 1. Rendimentos médios relativos de ADN a partir de amostras de sangue colhidas com vários tubos primários e anticoagulantes

Tubo primário	Fabricante	N.º de cat.	Volume nominal	Rendimento médio*
BD™ Vacutainer® 9NC	BD	366007	9 ml	6,4 µg
BD Vacutainer K3E	BD	36847	10 ml	6,6 µg
BD Vacutainer K2E	BD	367864	6 ml	6,4 µg
S-Monovette® EDTA	Sarstedt®	02.1066.001	9 ml	6,5 µg
S-Monovette CPDA1	Sarstedt	01.1610.001	8,5 ml	6,3 µg
Vacurette® K3E	Greiner Bio-One®	455036	9 ml	6,5 µg
Vacurette 9NC	Greiner Bio-One	454382	2 ml	6,3 µg

O ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de amostras de sangue de doadores saudáveis (4,0 a 9,0 x 10<sup>6</sup> células/ml).

\* Para cada tubo primário, o rendimento médio é determinado a partir de 11 triplicados de amostras.

O ADN genómico eluído está pronto a ser utilizado em diferentes ensaios a jusante.

## Intervalo de entrada de amostra/saída de eluato e pureza do ADN

Podem ser selecionados diferentes volumes de eluição para isolamento de ADN genómico a partir de 200 µl de sangue total. Para o procedimento manual, os volumes de eluição variam de 50 a 200 µl. Para o fluxo de trabalho de rotação totalmente automatizado, 100 e 200 µl são possíveis volumes de eluição e para o fluxo de trabalho de rotação parcialmente automatizado (após lise manual), 100-200 µl (em incrementos de 10 µl) são possíveis volumes de eluição. Se a eluição for feita em volumes menores, a concentração final de ADN aumenta, mas o rendimento sofre uma ligeira redução. Recomendamos que seja utilizado um volume de eluição apropriado para a aplicação a jusante pretendida.

Foi avaliado o efeito de diferentes volumes de eluição na concentração geral de ADN. A figura 2 mostra um aumento da concentração de ADN em eluatos quando o volume de eluição é diminuído.

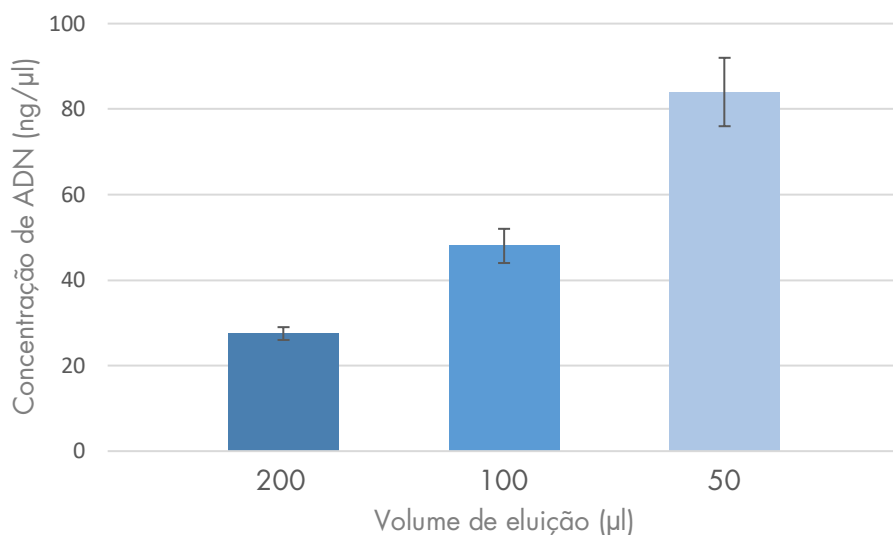


Figura 2. Concentração de ADN obtida após isolamento de ADN do sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit com diferentes volumes de eluição. Cada barra do gráfico representa os resultados de 32 réplicas (média ± desvio padrão).

Adicionalmente, como indicador da pureza do ADN, foi medida a proporção entre uma absorvância a 260 e 280 nm para os diferentes volumes de eluição testados. Não foi observada diferença entre os diferentes volumes de eluição e, no geral, a proporção média indicou uma baixa contaminação da proteína.

## Precisão

Os coeficientes de variações (Coefficients of Variations, CVs) foram determinados para a extração automatizada de ADN genómico humano de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit no QIAcube Connect MDx. O rendimento do ADN foi determinado através da medição de OD.

Foi determinada a repetibilidade (variabilidade intra-execuções numa execução de purificação) e a precisão intermédia (variabilidade inter-execuções através de diferentes execuções de purificação com diferentes operadores, em diferentes instrumentos e em diferentes dias). Os dados de precisão são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Análise de cálculos de precisão

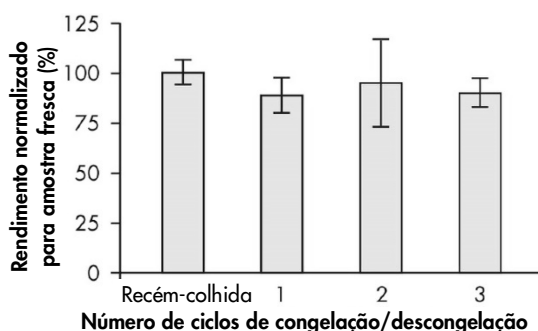
Precisão	CV (%)
Precisão intermédia	1,65
Repetibilidade	6,09
Precisão total	6,24

Para o procedimento de vácuo manual, foram determinados e avaliados rendimentos médios e CVs para verificar a precisão intermédia, a repetibilidade e a reprodutibilidade. Para além disso, foram analisados a integridade e o desempenho do ADN num ensaio de real-time PCR interno.

## Estabilidade da amostra

Nota: A estabilidade da amostra é altamente dependente de vários fatores e relaciona-se com a aplicação a jusante específica. Foi avaliada com aplicações a jusante exemplares. É responsabilidade do utilizador consultar as instruções de utilização da aplicação a jusante específica utilizada no seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer condições de armazenamento apropriadas.

Os efeitos do congelamento e descongelamento das amostras de sangue tratadas com EDTA sobre a purificação do DNA, quando utilizado o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit, foram determinados. Não foi observada uma diminuição de rendimento (ver Figura 3) ou de desempenho em ensaios a jusante.



**Figura 3. Efeitos do congelamento e descongelamento de amostras de sangue.** O sangue tratado com EDTA foi congelado e descongelado até 3 vezes e, em seguida, foi submetido a purificação de ADN com o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Os rendimentos calculados de ADN são normalizados para o rendimento de uma amostra fresca (100%). Cada barra do gráfico representa os resultados de 32 réplicas (média  $\pm$  desvio padrão).

## Estabilidade do Eluato

**Nota:** A estabilidade do eluato é altamente dependente de vários fatores e relaciona-se com a aplicação a jusante específica. Foi avaliada para o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit em conjunto com aplicações a jusante exemplares. É responsabilidade do utilizador consultar as instruções de utilização da aplicação a jusante específica utilizada no seu laboratório e/ou validar todo o fluxo de trabalho para estabelecer condições de armazenamento apropriadas.

A estabilidade do eluato para o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit foi avaliada após a extração de ácido nucleico de sangue humano com espectrofotometria e um ensaio de real-time PCR interno. O ADN eluído pode ser armazenado a 2-8 °C durante um período máximo de 4 semanas. Para períodos de armazenamento de longa duração, recomendamos o armazenamento a -20 °C.

## Substâncias interferentes

Diferentes substâncias exógenas e endógenas potencialmente interferentes presentes no sangue total dos doentes foram enriquecidas em amostras de sangue para testar o seu impacto em ensaios a jusante exemplares, após isolamento do gDNA com o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Foram avaliadas potenciais substâncias interferentes comuns para a hemólise (hemoglobina humana), lipemia (triglicéridos) e icterícia (bilirrubina não conjugada). Além disso, foi avaliado o efeito interferente da concentração de K2-EDTA, K3-EDTA, e Na2-EDTA três vezes maior do que a já presente no tubo de colheita. Não foi observado um impacto negativo tanto para estes potenciais interferentes como para aproximadamente 20 outros, tais como medicamentos utilizados para, por exemplo, o tratamento de cancro, suscetíveis de serem encontrados em amostras de doentes.

**Nota:** A testagem foi realizada utilizando aplicações a jusante exemplares para uma avaliação da qualidade dos ácidos nucleicos extraídos. No entanto, diferentes aplicações a jusante poderão ter diferentes requisitos no que diz respeito à pureza (por ex., ausência ou concentração de potenciais substâncias interferentes), pelo que a identificação e testagem de substâncias relevantes e respetiva concentração deve ser estabelecida como parte do desenvolvimento da aplicação a jusante para qualquer fluxo de trabalho que envolva o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Quaisquer potenciais substâncias interferentes (por ex., medicamentos) e a concentração correspondente são bastante específicas da aplicação a jusante e de possíveis tratamentos médicos anteriores de um paciente e devem ser investigadas durante a verificação de tal aplicação a jusante utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.





Nota: De acordo com a norma ISO 20186-2:2019(E), a heparina de tubos de colheita de sangue pode impactar a pureza de ácidos nucleicos isolados e a possível transferência para eluatos pode causar inibições em certas aplicações a jusante. Assim sendo, para a preparação de plasma, recomendamos a utilização de amostras de sangue tratadas com EDTA ou citrato como anticoagulante.

## Contaminação cruzada

O perigo de contaminação cruzada para a purificação automatizada de ácido nucleico no QIAcube Connect MDx foi analisado através da realização de cinco execuções de 12 amostras com lotes de verificação alternadas (amostras positivas e negativas alternadas), utilizando um fluxo de trabalho do QIAamp exemplar (QIAamp DSP Virus Spin em conjunto com amostras de plasma e de soro de  $1.00E+07$  cópias/ml de um vírus de ADN). Uma potencial contaminação das amostras negativas durante as execuções de extração foi avaliada através de uma análise subsequente dos eluatos utilizando um ensaio de real-time PCR interno. Não foi detetada contaminação cruzada na transferência de amostra para amostra ou de execução para execução.

## Símbolos

Os seguintes símbolos são apresentados neste documento. Para uma lista completa dos símbolos utilizados nas instruções de utilização, na embalagem ou na rotulagem, consulte o manual.

Símbolo	Definição do símbolo
	Este produto cumpre os requisitos do Regulamento europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de catálogo
<b>Rn</b>	R refere-se à revisão das Instruções de utilização e n é o número da revisão
	Fabricante

## Histórico de revisões

Revisão	Descrição
R1, junho de 2022	<p>Versão 3, Revisão 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Atualização para versão 3 para conformidade com o RDIV</li><li>• Transferência e atualização da seção Características de desempenho do manual do kit para este documento:<ul style="list-style-type: none"><li>○ Transferência da seção Rendimento de ADN purificado e da seção Desempenho em ensaios a jusante no capítulo Desempenho básico e compatibilidade com diferentes aplicações a jusante</li><li>○ Adição da seção Intervalo de entrada de amostra/saída de eluato e pureza do ADN</li><li>○ Adição da seção Precisão</li><li>○ Atualização da seção Estabilidade do eluato</li><li>○ Adição da seção Estabilidade da amostra</li><li>○ Adição da seção Substâncias interferentes</li><li>○ Adição da seção Contaminação cruzada</li><li>○ Adição da seção Símbolos</li><li>○ Adição da seção Histórico de revisões</li></ul></li></ul>

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncias de responsabilidade específicas do produto, consulte o respectivo manual do utilizador ou manual do kit QIAGEN. Os manuais do utilizador e os manuais dos kits 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®, QIAcube®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD™, Vacutainer® (Becton Dickinson and Company); S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); Vacuette® (Greiner Bio-One GmbH); Os nomes registados, as marcas comerciais etc. utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados especificamente como tal, devem ser considerados como protegidos por lei.  
HB-3030-D01-001 © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.



