

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



Versão 3



Para utilização em diagnóstico in vitro  
Utilizar em conjunto com QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit



61104



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA



1127543PT

# Conteúdo

Utilização prevista.....	4
Utilizador previsto.....	4
Descrição e princípio.....	5
Lise das células do sangue.....	5
Ligação do ADN genómico à membrana da coluna de rotação QIAamp Mini .....	5
Remoção de contaminantes residuais.....	6
Eluição de ADN genómico puro .....	6
Rendimento e qualidade do ADN genómico isolado .....	7
Purificação automatizada no QIAcube Connect MDx.....	7
Resumo e explicação .....	10
Materiais fornecidos .....	11
Conteúdo do kit.....	11
Componentes do kit.....	12
Materiais necessários, mas não fornecidos.....	13
Reagentes adicionais .....	13
Consumíveis.....	13
Equipamento .....	13
Somente para o procedimento de vácuo .....	13
Somente para o procedimento automatizado .....	14
Avisos e precauções.....	15
Informações de segurança .....	15
Precauções.....	16

Eliminação .....	17
Armazenamento e manuseamento de reagentes .....	18
Estabilidade na utilização.....	18
Colheita, armazenamento e manuseamento de espécimes .....	19
Notas importantes .....	21
Pontos importantes antes de iniciar um protocolo.....	21
Preparação de reagentes e tampões.....	22
Manuseamento de colunas de rotação QIAamp Mini .....	23
Montagem do sistema de vácuo QIAvac 24 Plus .....	24
Procedimento .....	26
Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando uma microcentrifuga/purificação automatizada no QIAcube Connect MDx .....	26
Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando um sistema de vácuo.....	31
Controlo de qualidade .....	36
Limitações.....	37
Características de desempenho .....	38
Guia de resolução de problemas .....	39
Símbolos .....	42
Informações de encomenda .....	45
Histórico de revisões do documento .....	47

## Utilização prevista

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

O QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit foi concebido para ser utilizado em diagnóstico in vitro.

## Utilizador previsto

O produto destina-se a utilizadores profissionais, tais como técnicos e médicos com formação em técnicas de biologia molecular.

# Descrição e princípio

Cada procedimento do QIAamp DSP DNA Blood Mini é composto por 4 passos:

- Lise das células na amostra de sangue
- Ligação do ADN genómico do lisado de células à membrana da coluna de rotação QIAamp Mini
- Lavagem da membrana
- Eluição do ADN genómico da membrana

Este manual contém protocolos para dois procedimentos alternativos do QIAamp DSP DNA Blood Mini: o procedimento de centrifugação, que requer uma centrífuga e que pode ser automatizado no QIAcube® Connect MDx (Figura 1) e o procedimento de vácuo, que requer uma centrífuga e um sistema de vácuo (consultar o fluxograma, página 9).

## Lise das células do sangue

As amostras são lisadas sob condições de desnaturação a temperaturas elevadas. A lise é realizada na presença de QIAGEN® Protease (QP) e de tampão de lise (AL).

## Ligação do ADN genómico à membrana da coluna de rotação QIAamp Mini

Para otimizar a ligação de ADN genómico à membrana da coluna de rotação QIAamp Mini, primeiramente adiciona-se etanol ao lisado. Cada lisado é então aplicado à coluna de rotação QIAamp Mini e o ADN genómico é adsorvido para a membrana de sílica à medida que o lisado passa pela coluna por aplicação de vácuo ou força centrífuga.

## Remoção de contaminantes residuais

Enquanto o ADN genómico permanecer ligado à membrana da coluna de rotação QIAamp Mini, os contaminantes são eficazmente removidos por lavagem utilizando primeiro o tampão de lavagem 1 (AW1) e, em seguida, o tampão de lavagem 2 (AW2).

## Eluição de ADN genómico puro

O ADN genómico é eluído a partir da membrana da coluna de rotação QIAamp Mini utilizando 50 a 200 µl de tampão de eluição (AE). O ADN eluído fica pronto a ser utilizado em diferentes ensaios a jusante, incluindo uma variedade de ensaios a jusante de diagnóstico in vitro. O tampão de eluição (AE) deve ser equilibrado à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de ser aplicado à coluna.

Devido ao tampão de eluição restante retido pela membrana da coluna de rotação após a centrifugação, o volume de eluato recuperado pode ser mais baixo do que o volume de tampão de eluição (AE) aplicado na coluna. O volume de eluato obtido depende da natureza da amostra. O ADN eluído é recolhido em tubos de eluição (ET) e 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.

**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.

## Rendimento e qualidade do ADN genómico isolado

O rendimento de ADN depende da amostra e da qualidade do material inicial. 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.

O rendimento e a qualidade do ADN genómico isolado são apropriados para procedimentos de deteção a jusante em diagnósticos moleculares tais como PCR. Os ensaios de diagnóstico devem ser realizados de acordo com as instruções do fabricante.

## Purificação automatizada no QIAcube Connect MDx

O QIAcube Connect MDx realiza o isolamento e a purificação automatizados de ácidos nucleicos. Pode processar até 12 amostras em cada execução.

A preparação de amostras com o QIAcube Connect MDx segue os mesmos passos do procedimento manual (ou seja, lise, ligação, lavagem e eluição), permitindo usar o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para purificação de ADN de elevada qualidade.

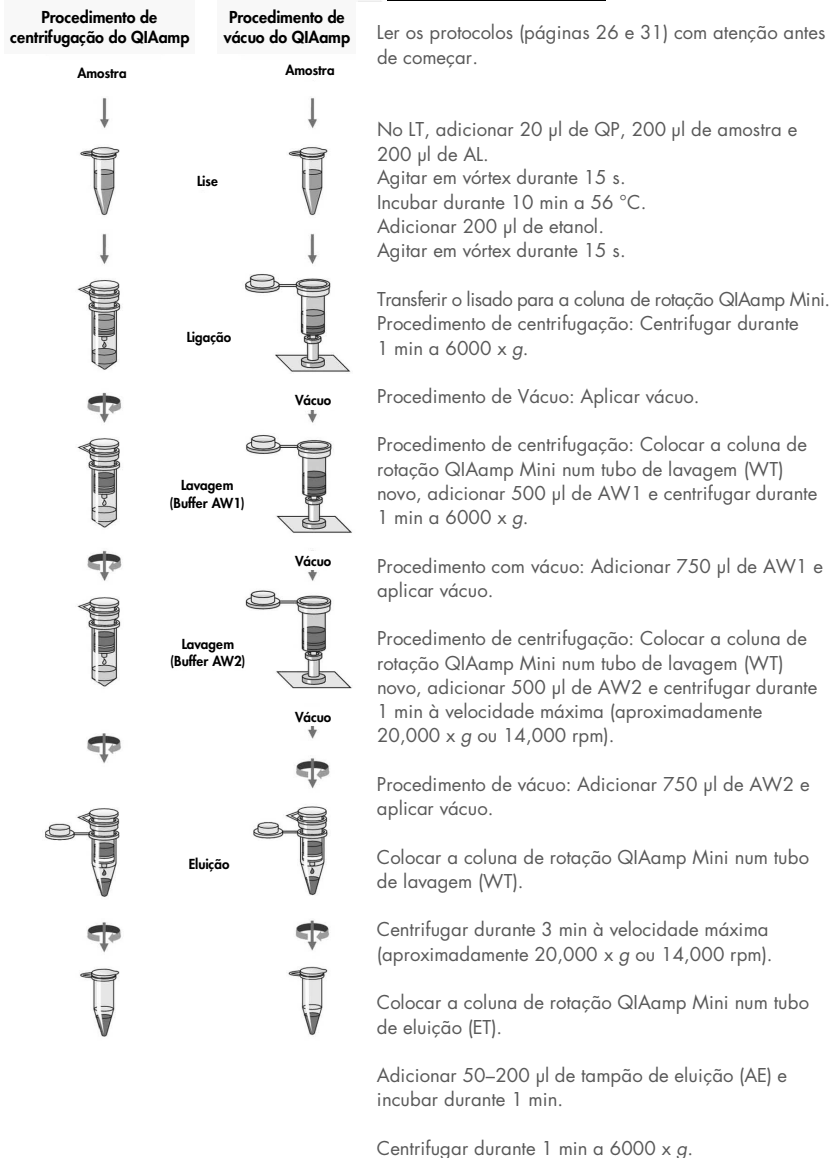
Em caso de automatização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit no instrumento QIAcube Connect MDx, este poderá processar menos do que 50 amostras devido a volumes mortos, evaporação e consumo adicional de reagente por pipetagem automatizada. A QIAGEN apenas garante 50 preparações de amostras com utilização manual do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.



Figura 1. O QIAcube Connect MDx.



## Os procedimentos de centrifugação e vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini



## Resumo e explicação

O QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit utiliza tecnologia comprovada que permite um rápido e fácil isolamento e purificação de ADN genómico a partir de 200 µl de sangue total.

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.

A separação prévia de leucócitos não é necessária. Os procedimentos não requerem extração com fenol/clorofórmio, nem precipitação com álcool e exigem apenas uma interação mínima por parte do utilizador, permitindo uma manipulação segura de amostras potencialmente infecciosas. Os procedimentos foram concebidos para minimizar a contaminação-cruzada entre amostras. O ADN purificado está pronto para ser utilizado em PCR ou outras aplicações, ou alternativamente pode ser conservado a -20 °C para utilização a longo prazo.

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 (página 7).

Para o procedimento de vácuo, são necessários para o protocolo um coletor de vácuo (por ex. o QIAvac 24 Plus com o QIAvac Connecting System) e uma bomba de vácuo com capacidade para produzir um vácuo de aproximadamente 800–900 mbar (por ex. o QIAGEN Vacuum Pump). Para fácil monitorização da pressão e libertação conveniente do vácuo deve ser utilizado um Vacuum Regulator (parte do QIAvac Connecting System).

# Materiais fornecidos

## Conteúdo do kit

### QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

N.º de catálogo

61104

Número de preparações

50

	Identificação	Símbolos	Quantidade
5	QIAamp Mini Spin Columns with Wash Tubes (WT) (QIAamp Mini Spin Columns com tubos de lavagem) (2 ml)		50
ET	Elution Tubes (Tubos de eluição) (1,5 ml)	 	50
VC	VacConnectors		50
LT	Lysis Tubes (Tubos de lise) (1,5 ml)		50
WT	Wash Tubes (Tubos de lavagem) (2 ml)		3 x 50
AL	Lysis Buffer* (Tampão de lise)		12 ml
AW1	Wash Buffer 1 (Tampão de lavagem 1) <sup>†</sup> (concentrado)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 <sup>‡</sup> (Tampão de lavagem 2) (concentrado)		13 ml
AE	Elution Buffer (Tampão de eluição) <sup>†</sup>		25 ml
PS	Protease Solvent (Solvente de protease) <sup>†</sup>		2 ml
QP	Protease QIAGEN <sup>§</sup>		1 frasco
-	Instruções de utilização (Manual)		1

\* Em caso de automatização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit no instrumento QIAcube Connect MDx, este poderá processar menos do que 50 amostras devido a volumes mortos, evaporação e consumo adicional de reagente por pipetagem automatizada. A QIAGEN apenas garante 50 preparações de amostras com utilização manual do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

<sup>†</sup> Contém cloridrato de guanidina. Não compatível com desinfetantes que contenham lixívia. Para obter mais informações, consultar Informações de segurança na página 15.

<sup>‡</sup> Contém azida de sódio como conservante.

<sup>§</sup> Volume de ressuspensão 1,2 ml. Consultar "Preparação de reagentes e tampões" na página 22.

## Componentes do kit

Os componentes principais do kit que contêm ingredientes ativos estão explicados a seguir.

<b>Reagente</b>	<b>Ingredientes ativos</b>	<b>Concentração (w/w) [%]</b>
QIAGEN Protease	Subtilisina	$\geq 0$ a $\leq 100$
AL	Cloridrato de guanidina Ácido maleico	$\geq 30$ a $< 50$ $\geq 0,1$ a $< 1$
AW1	Cloridrato de guanidina	$\geq 50$ a $< 70$

# Materiais necessários, mas não fornecidos

## Reagentes adicionais

- Etanol (96–100%)\*

## Consumíveis

- Pipetas† e pontas de pipeta (para evitar contaminação cruzada, é recomendada a utilização de pontas de pipeta com proteção contra aerossóis)
- Luvas descartáveis

## Equipamento

- Bloco de aquecimento† para lise de amostras a 56 °C (para microtubos de teste de 1,5 ml)
- Microcentrífuga†
- Cilindro graduado (50 ml)
- Misturador de vórtice

## Somente para o procedimento de vácuo

- Sistema de vácuo QIAvac 24 Plus (n.º de cat. 19413) ou equivalente†
- VacValves (n.º de cat. 19408)
- QIAvac Connecting System (n.º de cat. 19419)
- Vacuum Pump (n.º de cat. 84020)
- Vacuum Regulator (n.º de cat. 19530)

\* Não utilizar álcool desnatado, que contém outras substâncias como metanol ou metil-etil-cetona.

† Para assegurar que as amostras são processadas adequadamente nos procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini, recomenda-se que os instrumentos (por ex., pipetas e blocos de aquecimento) sejam calibrados de acordo com as recomendações dos fabricantes.

## Somente para o procedimento automatizado

- QIAcube Connect MDx Equipamento( n.º de cat. 9003070) \*
- Rotor Adapters (n.º de cat. 990394)
- Rotor Adapter Holder (n.º de cat. 990392)
- Sample Tubes CB (n.º de cat. 990382; tubo de entrada de amostra)
- Shaker Rack Plugs (n.º de cat. 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml, (n.º de cat. 990393)
- Filter Tips, 1000 µl (n.º de cat. 990352)
- Filter Tips, 200 µl (n.º de cat. 990332)
- SafeSeal Tube, 1,5 ml (Sarstedt®, n.º de cat. 72.706)

\* Para assegurar que as amostras são processadas adequadamente nos procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini, recomenda-se que os instrumentos (por ex., pipetas e blocos de aquecimento) sejam calibrados de acordo com as recomendações dos fabricantes.

## Avisos e precauções


Tenha em atenção que poderá ser necessário consultar os regulamentos locais para comunicar incidentes graves, que possam ocorrer em relação ao dispositivo, ao fabricante e/ou ao representante autorizado e à autoridade reguladora do local onde o utilizador e/ou paciente se encontram.

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Leia atentamente todas as instruções antes de utilizar o kit.

## Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, utilize sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (Safety Data Sheet, SDS) adequadas. Estas estão disponíveis online no formato PDF prático e compacto em [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a ficha de dados de segurança (Safety Data Sheet, SDS) de cada kit QIAGEN e respetivos componentes.

<p><b>CUIDADO</b></p> 	<p>NÃO adicione lixívia nem soluções ácidas diretamente aos resíduos provenientes da preparação de amostras.</p>
---	--

- O tampão de lise (AL) e o tampão de lavagem 1 (AW1) contêm cloridrato de guanidina, que pode formar compostos altamente reativos quando misturado com lixívia. Em caso de derrame de algum líquido contendo os tampões referidos, limpar com detergentes apropriados para utilização em laboratório e água. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, limpar a área afetada primeiramente com detergente apropriado para utilização em laboratório e água e, depois, com 1% (v/v) de solução de hipoclorito de sódio. Se os frascos de tampão estiverem danificados ou apresentarem fugas, utilizar luvas e óculos de proteção ao descartar os recipientes para evitar acidentes pessoais e lesões em terceiros.

- A QIAGEN não testou os resíduos líquidos gerados pelos procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini quanto à existência de materiais infecciosos residuais. A contaminação dos resíduos líquidos com materiais infecciosos residuais é improvável, mas não pode ser completamente excluída. Por conseguinte, os resíduos líquidos têm de ser considerados infecciosos e têm de ser manuseados e eliminados de acordo com os regulamentos de segurança locais.
- Os espécimes e as amostras são potencialmente infecciosos. Elimine os resíduos de amostras e dos ensaios de acordo com os procedimentos de segurança locais.

## Informações para casos de emergência

CHEMTREC

EUA e Canadá 1-800-424-9300

Fora dos EUA e do Canadá +1 703-527-3887

## Precauções

As seguintes frases relacionadas com segurança e riscos aplicam-se aos componentes do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

### Buffer AL



Contém cloridrato de guanidina e ácido maleico. Aviso! Pode ser nocivo por ingestão ou inalação. Provoca irritação cutânea. Pode provocar uma reação alérgica cutânea. Provoca irritação ocular grave. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Contactar um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico em caso de indisposição. Em caso de irritação ou erupção cutânea: Consultar imediatamente um médico. Retirar o vestuário contaminado e lavar antes de voltar a usá-lo. Eliminar o conteúdo/recipiente em instalação de eliminação de resíduos aprovada.

### Buffer AW1



Contém: cloridrato de guanidina. Aviso! Nocivo por ingestão ou inalação. Provoca irritação cutânea. Provoca irritação ocular grave. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Retirar o vestuário contaminado e lavar antes de voltar a usá-lo. Eliminar o conteúdo/recipiente em instalação de eliminação de resíduos aprovada.



## QIAGEN Protease



Contém: subtilisina. Perigo! Nocivo por ingestão. Provoca irritação cutânea. Provoca lesões oculares graves. Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. Pode provocar irritação das vias respiratórias. Evitar respirar poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. Usar proteção respiratória. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: Enxague cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Em caso de exposição ou suspeita de exposição: Contactar imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Retire o indivíduo para uma zona ao ar livre e mantenha-o confortável para facilitar a respiração.

## Eliminação

Os resíduos contêm amostras e reagentes. Estes resíduos podem conter material tóxico ou infeccioso, pelo que devem ser adequadamente eliminados. Consulte os regulamentos de segurança locais para obter informações sobre os procedimentos de eliminação adequados.

Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (Safety Data Sheet, SDS) adequadas. Estas estão disponíveis online no formato PDF, em [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) onde é possível encontrar, visualizar e imprimir as fichas de dados de segurança (SDS) para cada kit QIAGEN e respetivos componentes.

## Armazenamento e manuseamento de reagentes

Devem ser observados os prazos de validade e as condições de armazenamento impressos na caixa e nas etiquetas de todos os componentes. Não utilize componentes fora do prazo de validade ou armazenados de forma incorreta.

As colunas de rotação QIAamp Mini devem ser armazenadas a temperaturas entre 2 e 8 °C após a entrega e podem ser utilizadas até à data de validade indicada na caixa do kit.

Nota: Para garantir que componentes de diferentes kits não são misturados, identifique a coluna para centrifugação do QIAamp Mini com o respetivo número do lote do kit.

Todos os tampões podem ser armazenados à temperatura ambiente (15–25 °C) até ao fim da data de validade indicada na caixa do kit.

A QIAGEN Protease (QP) liofilizada pode ser armazenada à temperatura ambiente (15–25 °C) até ao fim da data de validade do kit sem que isso afete o seu desempenho.

### Estabilidade na utilização

A QIAGEN Protease (QP) reconstituída mantém-se estável até um ano, desde que seja armazenada a temperaturas entre 2 e 8 °C, mas só até ao fim da data de validade do kit. Deve evitar-se manter a solução-mãe do QIAGEN Protease (QP) à temperatura ambiente por períodos prolongados.

O tampão de lavagem 1 (AW1) reconstituído e o tampão de lavagem 2 (AW2) reconstituído permanecem estáveis durante um ano quando armazenados à temperatura ambiente (15–25 °C), mas só até ao fim da data de validade do kit.

Para a preparação de tampões para o procedimento automatizado, siga as instruções no *Manual do utilizador do QIAcube Connect MDx* (que pode ser encontrado no separador de recursos da página do produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Colheita, armazenamento e manuseamento de espécimes

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.

Para recomendações de colheita geral, transporte e armazenamento consulte a diretriz MM13-A: "Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods", aprovada pelo CLSI. Além disso, as instruções do fabricante para o dispositivo de colheita de amostras selecionado devem ser seguidas durante a preparação, armazenamento, transporte e manuseamento geral da amostra. Independentemente das instruções do fabricante do tubo de colheita de sangue, a ISO 20186-2:2019 (E) deve ser considerada para a extração de ADN genómico a partir de sangue total venoso.

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, recomendamos a utilização de amostras de sangue tratadas com EDTA ou citrato como anticoagulante.

Se forem utilizadas amostras de sangue recém-colhidas em tubos primários, misturar cuidadosamente as amostras de sangue (por exemplo, invertendo os tubos várias vezes) antes da transferência de amostras. As amostras congeladas (com um máximo de três ciclos de congelamento/descongelamento) devem ser descongeladas rapidamente em banho-maria a 37 °C com agitação ligeira, para assegurar homogeneização, devendo depois ser estabilizadas à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar o procedimento. Não utilizar amostras de sangue que tenham sido congeladas e descongeladas mais de três vezes. Para assegurar uma transferência fiável da amostra, evitar produzir espuma nos tubos de amostras. Tentar evitar a formação de coágulos de sangue nas amostras e transferir a amostra sem coágulos. Os crioprecipitados que se formam durante o descongelamento de amostras congeladas irão obstruir a membrana da coluna de rotação do QIAamp Mini ou poderão afetar o procedimento automatizado no QIAcube Connect MDx. Se estiverem visíveis crioprecipitados, evite aspirá-los.

O rendimento e a qualidade do ADN purificado dependem das condições de armazenamento do sangue. As amostras de sangue mais recentes podem apresentar melhores resultados. Para o armazenamento a curto prazo durante um máximo de 10 dias, recomendamos o armazenamento a 2–8 °C. No entanto, para aplicações que requeiram um tamanho de fragmento máximo, como, por exemplo, "Southern blotting", recomendamos o armazenamento a 2–8 °C durante um máximo de 3 dias apenas, uma vez que ocorrerão níveis baixos de degradação do ADN depois de decorrido este tempo. Para o armazenamento a longo prazo (mais de 10 dias), realizar a colheita de sangue em tubos que contenham um anticoagulante padrão (de preferência EDTA, caso seja necessário ADN de elevado peso molecular) e armazenar a -20 ou -80 °C.

# Notas importantes

## Pontos importantes antes de iniciar um protocolo

- Após a receção do kit, verificar todos os componentes do mesmo quanto a danos. Se as embalagens de blister ou os frascos de tampão apresentarem danos, contactar os Serviços de Assistência Técnica da QIAGEN ou o distribuidor local. Em caso de derrame de líquido, consultar "Informações de segurança" (página 15). Não utilizar os componentes do kit que estejam danificados, pois a sua utilização pode levar a um funcionamento deficiente dos mesmos.
- Trocar sempre as pontas das pipetas entre cada transferência de líquidos. Para minimizar a contaminação cruzada, recomenda-se a utilização de pontas de pipeta com proteção contra aerossóis.
- Utilizar sempre luvas descartáveis ao longo de todo o procedimento e assegurar regularmente que não estão contaminadas com material proveniente da amostra. Descartar as luvas quando contaminadas.
- Para minimizar a contaminação cruzada, abrir só um tubo de cada vez.
- Depois de todos os passos de agitação em vórtex pulsado, centrifugar por instantes os tubos de microcentrifugação para remover as gotas do interior das tampas. O utilizador deve garantir que a rastreabilidade das amostras é mantida durante o procedimento.
- Realizar todos os passos correspondentes à centrifugação à temperatura ambiente (15–25 °C).
- Não utilizar componentes de outros kits com o kit que está a ser utilizado em determinado momento, exceto se os números de lote forem iguais.
- Evitar a contaminação microbiana dos reagentes do kit.
- Para minimizar o risco de infeção com materiais potencialmente infecciosos, recomenda-se trabalhar num ambiente de fluxo de ar laminar até as amostras serem lisadas.
- Este kit apenas deve ser utilizado por pessoal com formação em práticas laboratoriais de diagnóstico in vitro.

## Preparação de reagentes e tampões

- Preparação da QIAGEN Protease

Adicionar 1,2 ml de solvente de protease (PS) ao recipiente de QIAGEN Protease (QP) liofilizada e misturar cuidadosamente. Para evitar a formação de espuma, misturar invertendo o tubo várias vezes. Garantir que a QIAGEN Protease (QP) está completamente dissolvida.

Importante: Não adicionar QIAGEN Protease (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).

- Preparação do tampão de lavagem 1

Utilizando um cilindro graduado, adicionar 25 ml de etanol (96–100%) ao frasco que contém 19 ml de tampão de lavagem 1 (AW1) concentrado. Armazenar o tampão de lavagem 1 (AW1) reconstituído à temperatura ambiente (15–25 °C).

Importante: Misturar sempre o tampão de lavagem 1 (AW1) reconstituído invertendo o frasco várias vezes antes de iniciar o procedimento.

- Preparação do tampão de lavagem 2

Utilizando um cilindro graduado, adicionar 30 ml de etanol (96–100%) ao recipiente que contém 13 ml de tampão de lavagem 2 (AW2) concentrado. Armazenar o tampão de lavagem 2 (AW2) reconstituído à temperatura ambiente (15–25 °C).

**Importante:** Misturar sempre o tampão de lavagem 2 (AW2) reconstituído invertendo o frasco várias vezes antes de iniciar o procedimento.

- Preparação do tampão de eluição

É fornecido um frasco de tampão de eluição (AE) juntamente com o kit. Para evitar a contaminação do tampão de eluição (AE), recomenda-se a utilização de pontas de pipeta com proteção contra aerossóis ao pipetar tampão de eluição (AE) a partir do frasco e a reposição da tampa do frasco logo de seguida.

**Importante:** O tampão de eluição (AE) contém azida de sódio como conservante, que apresenta absorvância a 260 nm. Por conseguinte, ao quantificar ADN no eluato através da medição da absorvância a 260 nm, ao determinar a pureza do ADN no eluato através da medição da absorvância a 260 nm e 280 nm ou ao examinar a absorvância num intervalo entre 220 e 350 nm, certifique-se de que o branco contém a mesma concentração de azida de sódio que o eluato. Por exemplo, ao preparar eluato para medir a absorvância através da diluição de 50 µl de eluato com 100 µl de água, o branco deve ser preparado diluindo 50 µl de tampão de eluição (AE) com 100 µl de água. Utilizar água doce destilada para as diluições.

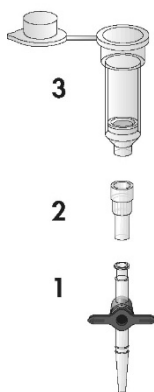
## Manuseamento de colunas de rotação QIAamp Mini

Dada a sensibilidade das tecnologias de amplificação de ácidos nucleicos, as precauções a seguir indicadas são necessárias ao manusear colunas de rotação QIAamp Mini para evitar contaminação cruzada entre preparações de amostras:

- Aplicar cuidadosamente a amostra ou a solução na coluna de rotação QIAamp Mini. Pipetar a amostra para a coluna de rotação QIAamp Mini sem molhar as bordas da coluna.
- Evitar tocar com a ponta de pipeta na membrana da coluna de rotação QIAamp Mini.
- Abrir apenas uma coluna de rotação QIAamp Mini de cada vez e ter cuidado para evitar a formação de aerossóis.

## Montagem do sistema de vácuo QIAvac 24 Plus

Assegurar que a coluna de rotação QIAamp Mini, o VacConnector (VC) e a VacValve estão corretamente montados (consultar a Figura 2).



**Figura 2. Montagem de componentes do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para o processamento de amostras em vácuo.** (1) VacValve (2) VacConnector (VC), e (3) Coluna de rotação QIAamp Mini.

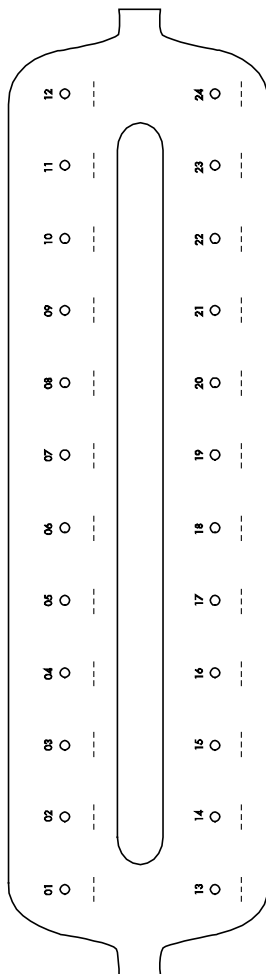
Se utilizar o procedimento de vácuo com o sistema de vácuo do QIAvac 24 Plus, recomenda-se legendar os tubos de lise (LT), os tubos de eluição (ET) e as colunas de rotação QIAamp Mini de acordo com o esquema na Figura 3 (consultar a página seguinte) para evitar misturar as amostras. Esta figura pode ser fotocopiada e legendada com o nome das amostras. Recomenda-se a utilização de um esquema semelhante ao utilizar outros sistemas de vácuo ou o procedimento de centrifugação.



Data: \_\_\_\_\_

Operador: \_\_\_\_\_

ID do ensaio: \_\_\_\_\_



**Figura 3. Esquema de legenda para tubos de lise (LT), tubos de eluição (ET) e colunas de rotação QIAamp Mini para utilização no sistema de vácuo QIAvac 24 Plus.**

# Procedimento

## Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando uma microcentrífuga/purificação automatizada no QIAcube Connect MDx

Para o isolamento e a purificação de ADN genómico a partir de 200 µl de amostras de sangue total tratado com EDTA ou citrato, utilizando uma microcentrífuga ou automaticamente no QIAcube Connect MDx.

### Pontos importantes antes de começar

- O procedimento descrito a seguir fornece instruções para o processamento de uma única amostra de sangue. No entanto, podem ser processadas várias amostras ao mesmo tempo; o número depende da capacidade da microcentrífuga.
- O processamento automatizado de 2–10 ou 12 amostras pode ser realizado no instrumento QIAcube Connect MDx.
- Para automatização, siga as instruções na interface do utilizador (QIAcube Connect MDx) e consulte o *Manual do utilizador do QIAcube Connect MDx* (que pode ser encontrado no separador de recursos da página do produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Passos a seguir antes de começar

- Equilibrar as amostras de sangue à temperatura ambiente e assegurar que as mesmas estão bem misturadas.
- Garantir que todos os reagentes e as colunas de rotação do QIAamp Mini (em blisters fechados) estão estabilizados à temperatura ambiente.
- Colocar um bloco de aquecimento a 56 °C para utilizar no quarto passo (necessário para procedimento manual e procedimento automatizado com lise manual fora do instrumento).
- Assegurar que o tampão de lavagem 1 (AW1), o tampão de lavagem 2 (AW2) e a QIAGEN Protease (QP) foram preparados de acordo com as instruções constantes em "Preparação de reagentes e tampões" na página 22.

- Caso se tenha formado precipitado no tampão de lise (AL), dissolvê-lo incubando a 56 °C.
- A QIAGEN implementa procedimentos de controlo de qualidade que utilizam testes funcionais para lançamento de kits em cada lote de kits individuais. Por conseguinte é imperativo não misturar reagentes de lotes de kits diferentes e não combinar reagentes individuais de lotes de reagentes diferentes.

## Procedimento

- Para o procedimento manual com uma microcentrifuga, siga os passos 1–15.
  - Este procedimento pode ser automatizado em 3 versões diferentes:
    - Volume de eluição: Automatização completa de 100 µl (com automatização iniciada a partir do passo 1)
    - Volume de eluição: Automatização completa de 200 µl (com automatização iniciada a partir do passo 1)
    - Lise manual: parcialmente automatizada com lise manual fora do equipamento e volumes de eluição de 100–200 µl em incrementos de 10 µl (com automatização iniciada depois do passo 5)
1. Pipetar 20 µl de protease QIAGEN (QP) para um tubo de lise (LT).
    - ⓘ Verificar a data de validade da protease reconstituída antes da respetiva utilização.
  2. Adicionar 200 µl da amostra de sangue ao tubo de lise (LT).
  3. Adicionar 200 µl do tampão de lise (AL) ao tubo de lise (LT), fechar a tampa e agitar em vórtex pulsado por ≥ 15 seg.
    - ⓘ Para assegurar um processo de lise eficaz, é fundamental que a amostra e o tampão de lise (AL) sejam muito bem misturados para se obter uma solução homogénea.

- i** Visto que o tampão de lise (AL) tem uma elevada viscosidade, garantir que se adiciona o volume correto de tampão de lise (AL) pipetando com cuidado ou utilizando uma pipeta adequada.
- i** Não adicionar QIAGEN Protease (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).
4. Incubar a 56 °C durante 10 min.
5. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante  $\geq 5$  s à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.
- i** Se a lise manual (passos 1–5) tiver sido realizada fora do instrumento, os passos seguintes (passos 6–15) podem ser automatizados no QIAcube Connect MDx utilizando o protocolo de lise manual.
6. Adicionar 200  $\mu$ l de etanol (96–100%) ao tubo de lise (LT), fechar a tampa e misturar cuidadosamente por agitação em vórtex pulsado durante  $\geq 15$  s.
7. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante  $\geq 5$  s à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.
8. Aplicar cuidadosamente todo o lisado obtido no passo 7 à coluna de rotação QIAamp Mini sem molhar as bordas. Evitar tocar com a ponta de pipeta na membrana da coluna de rotação QIAamp Mini.
- i** Ao processar várias amostras ao mesmo tempo, abrir só um tubo de lise (LT) de cada vez.
9. Fechar a tampa da coluna de rotação QIAamp Mini e centrifugar a aproximadamente 6000 x g durante 1 min. Colocar a coluna de rotação QIAamp Mini num tubo de lavagem (WT) limpo e eliminar o tubo que contém o filtrado.
- i** Se o lisado não tiver passado completamente através da membrana após a centrifugação a 6000 x g (8000 rpm), centrifugar novamente à velocidade máxima (até 20,800 x g) durante 1 min.
- i** Se ainda assim o lisado não passar através da membrana durante a centrifugação, eliminar a amostra e repetir o isolamento e a purificação com novo material de amostra começando pelo passo 1 na página 27.

10. Abrir cuidadosamente a coluna de rotação QIAamp Mini e adicionar 500 µl de tampão de lavagem 1 (AW1) sem molhar as bordas. Evitar tocar com a ponta de pipeta na membrana da coluna de rotação QIAamp Mini.
11. Fechar a tampa da coluna de rotação QIAamp Mini e centrifugar a aproximadamente 6000 x g durante 1 min. Colocar a coluna de rotação QIAamp Mini num tubo de lavagem (WT) limpo e eliminar o tubo que contém o filtrado.
12. Abrir cuidadosamente a coluna de rotação QIAamp Mini e adicionar 500 µl de tampão de lavagem 2 (AW2) sem molhar as bordas. Evitar tocar com a ponta de pipeta na membrana da coluna de rotação QIAamp Mini.
13. Fechar a tampa da coluna de rotação QIAamp Mini e centrifugar à velocidade máxima (aprox. 20,000 x g, ou 14,000 rpm) durante 1 min. Colocar a coluna de rotação QIAamp Mini num tubo de lavagem (WT) limpo e eliminar o tubo que contém o filtrado. Centrifugar a alta velocidade (aprox. a 20,000 x g, ou 14,000 rpm) por 3 min. até secar a membrana completamente.
  - ❗ A omissão da secagem por centrifugação pode resultar em inibição do ensaio a jusante.
14. Colocar a coluna de rotação QIAamp Mini num tubo de eluição (ET) novo e descartar o tubo de lavagem (WT) que contém o filtrado. Abrir cuidadosamente a tampa da coluna de rotação QIAamp Mini e aplicar entre 50 a 200 µl de tampão de eluição (AE) ao centro da membrana.
  - ❗ É importante utilizar um novo tubo de eluição para evitar contaminação com resíduos de tampões de lavagem, que pode levar à inibição do ensaio a jusante.
  - ❗ Distribuir o tampão de eluição (AE) no centro da membrana é especialmente importante para volumes de eluição menores, para garantir uma recuperação de ácidos nucleicos e do Tampão de Eluição (AE) ideais.

15. Fechar a tampa e incubar à temperatura ambiente durante 1 min. Centrifugar a aproximadamente 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min para eluir o ADN.

- ① Posicionar as tampas do tubo de eluição de forma a que estejam viradas para o sentido oposto à rotação do rotor (por ex., se a rotação do rotor for realizada no sentido dos ponteiros do relógio, posicionar as tampas no sentido contrário ao dos ponteiros do relógio).
- ① No caso de todos os procedimentos automatizados, remova os eluatos do instrumento diretamente após terminar a execução e armazene-os adequadamente.

## Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando um sistema de vácuo

Para o isolamento e a purificação de ADN genómico a partir de 200 µl de amostras de sangue total tratado com EDTA ou citrato utilizando um sistema de vácuo como o QIAvac 24 Plus.

### Ponto importante antes de iniciar

O procedimento descrito a seguir fornece instruções para o processamento de uma única amostra de sangue. No entanto, podem ser processadas até 24 amostras ao mesmo tempo no sistema de vácuo QIAvac 24 Plus.

### Passos a seguir antes de começar

- Equilibrar as amostras de sangue à temperatura ambiente e assegurar que as mesmas estão bem misturadas.
- Garantir que todos os reagentes e as colunas de rotação do QIAamp Mini (em blisters fechados) estão estabilizados à temperatura ambiente.
- Aquecer um bloco de aquecimento a 56 °C para utilizar no passo 4.
- Assegurar que o tampão de lavagem 1 (AW1), o tampão de lavagem 2 (AW2) e a QIAGEN Protease (QP) foram preparados de acordo com as instruções constantes em "Preparação de reagentes e tampões" na página 22.
- Caso se tenha formado precipitado no tampão de lise (AL), dissolvê-lo incubando a 56 °C.
- Para minimizar a contaminação cruzada, inserir um VacConnector (VC) em cada adaptador luer do sistema de vácuo.
- Assegurar que o frasco de resíduos do sistema de vácuo está vazio e que todas as ligações estão corretamente ligadas.
- Para detalhes sobre o funcionamento do sistema de vácuo, especialmente no que se refere à manutenção, consultar o manual fornecido com o mesmo.

- A QIAGEN implementa procedimentos de controlo de qualidade que utilizam testes funcionais para lançamento de kits em cada lote de kits individuais. Por conseguinte, é imperativo não misturar reagentes de lotes de kits diferentes e não combinar reagentes individuais de lotes de reagentes diferentes.

## Procedimento

1. Pipetar 20 µl de protease QIAGEN (QP) para um tubo de lise (LT).
  - ❗ Verificar a data de validade da protease reconstituída antes da respetiva utilização.
2. Adicionar 200 µl da amostra de sangue ao tubo de lise (LT).
3. Adicionar 200 µl do tampão de lise (AL) ao tubo de lise (LT), fechar a tampa e misturar por agitação em vórtex pulsado por  $\geq 15$  seg.
  - ❗ Para assegurar um processo de lise eficaz, é fundamental que a amostra e o tampão de lise (AL) sejam muito bem misturados para se obter uma solução homogénea.
  - ❗ Visto que o tampão de lise (AL) tem uma elevada viscosidade, garantir que se adiciona o volume correto de tampão de lise (AL) pipetando com cuidado ou utilizando uma pipeta adequada.
  - ❗ Não adicionar QIAGEN Protease (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).
4. Incubar a 56 °C durante 10 min.
5. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante  $\geq 5$  s à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.
6. Adicionar 200 µl de etanol (96–100%) ao tubo de lise (LT), fechar a tampa e misturar bem por agitação em vórtex pulsado durante  $\geq 15$  s.
7. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante  $\geq 5$  s à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.




8. Inserir a coluna de rotação QIAamp Mini no VacConnector (VC) do sistema de vácuo. Certificar-se de que a válvula de vácuo principal (entre o sistema de vácuo e o coletor de vácuo) e a válvula de tampa roscada (no coletor de vácuo) estão fechadas. Ligar a bomba de vácuo.

Descartar o tubo de lavagem (WT) (2 ml) no qual é colocada a coluna de rotação QIAamp Mini no blister.

O vácuo é aplicado apenas ao sistema de ligação (se utilizado) e não ao coletor de vácuo.


9. Aplicar cuidadosamente todo o lisado obtido no passo 7 à coluna de rotação QIAamp Mini sem molhar as bordas. Evitar tocar com a ponta de pipeta na membrana da coluna de rotação QIAamp Mini.


 Ao processar várias amostras ao mesmo tempo, abrir só um tubo de lise (LT) de cada vez.

10. Abrir a válvula de vácuo principal. Depois de o lisado passar através da coluna de rotação QIAamp Mini, fechar a válvula de vácuo principal e abrir a válvula de tampa roscada no coletor de vácuo para ventilar o coletor. Fechar a válvula de tampa roscada depois de libertado o vácuo do coletor.

Depois de fechar a válvula de vácuo principal, o vácuo é aplicado apenas ao sistema de ligação (se utilizado) e não ao coletor de vácuo.

 Fechar a válvula de tampa roscada do coletor de vácuo para uma rápida libertação do vácuo.

 Ao processar várias colunas de rotação QIAamp Mini ao mesmo tempo, recomenda-se fechar a VacValve de cada coluna após o lisado ter passado através da mesma para reduzir a duração desta etapa de vácuo.

 Se o lisado não tiver passado completamente através da membrana após 10 min, colocar a coluna de rotação QIAamp Mini num tubo de lavagem (WT) limpo, fechar a tampa e centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) durante 3 min ou até que o lisado tenha passado completamente através da mesma. Colocar a coluna de rotação QIAamp Mini noutro tubo de lavagem (WT) limpo e continuar com o passo 10 do protocolo na página 33.

**i** Se ainda assim o lisado não passar através da membrana durante a centrifugação, eliminar a amostra e repetir o isolamento e a purificação com novo material de amostra começando pelo passo 1 na página 32.

11. Aplicar 750 µl de tampão de lavagem 1 (AW1) à coluna de rotação QIAamp Mini sem molhar as bordas. Evitar tocar com a ponta de pipeta na membrana da coluna de rotação QIAamp Mini. Deixar a tampa da coluna aberta e abrir a válvula de vácuo principal. Após o tampão de lavagem 1 (AW1) ter passado através da coluna de rotação QIAamp Mini, fechar a válvula de vácuo principal e abrir a válvula de tampa roscada para ventilar o coletor. Fechar a válvula de tampa roscada depois de libertado o vácuo do coletor.

12. Aplicar 750 µl de tampão de lavagem 2 (AW2) à coluna de rotação QIAamp Mini sem molhar as bordas. Evitar tocar com a ponta de pipeta na membrana da coluna de rotação QIAamp Mini. Deixar a tampa da coluna aberta e abrir a válvula de vácuo principal. Após o tampão de lavagem 2 (AW2) ter passado através da coluna de rotação QIAamp Mini, fechar a válvula de vácuo principal e abrir a válvula de tampa roscada para ventilar o coletor. Fechar a válvula de tampa roscada depois de libertado o vácuo do coletor.

13. Fechar a tampa da coluna de rotação QIAamp Mini, removê-la do sistema de vácuo e descartar o VacConnector (VC). Colocar a coluna de rotação QIAamp Mini num tubo de lavagem (WT) limpo e centrifugar à velocidade máxima (aproximadamente 20,000 x g, ou 14,000 rpm) durante 3 min para secar completamente a membrana.

**i** A omissão da secagem por centrifugação pode resultar em inibição do ensaio a jusante.

14. Colocar a coluna de rotação QIAamp Mini num tubo de eluição (ET) novo e descartar o tubo de lavagem (WT) que contém o filtrado. Abrir cuidadosamente a tampa da coluna de rotação QIAamp Mini e aplicar entre 50 a 200 µl de tampão de eluição (AE) ao centro da membrana.

- ① É importante utilizar um novo tubo de eluição (ET) para evitar contaminação com resíduos de tampões de lavagem, que pode levar à inibição do ensaio a jusante.
- ① Distribuir o tampão de eluição (AE) no centro da membrana é especialmente importante para volumes de eluição menores, para garantir uma recuperação de ácidos nucleicos e do Tampão de Eluição (AE) ideais.

15. Fechar a tampa e incubar à temperatura ambiente durante 1 min. Centrifugar a 6000 x g (8000 rpm) durante 1 min para eluir o ADN.

- ① Posicionar as tampas do tubo de eluição (ET) de forma a que estejam viradas para o sentido oposto à rotação do rotor (por ex., se a rotação do rotor for realizada no sentido dos ponteiros do relógio, posicionar as tampas no sentido contrário ao dos ponteiros do relógio).
- ① Seguir o procedimento de manutenção do sistema de vácuo após realizar este protocolo (para obter mais detalhes, consultar o manual fornecido com o sistema de vácuo).

## Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de gestão da qualidade da QIAGEN certificado pela norma ISO, todos os lotes de QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit são testados face a especificações predeterminadas para garantir uma qualidade consistente do produto.

## Limitações

O desempenho do sistema foi estabelecido utilizando sangue total para isolamento de ADN genómico.

Informações sobre a utilização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit podem ser encontradas na secção “Descrição e princípio”. O procedimento de automatização encontra-se detalhado na secção “Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando uma microcentrífuga/purificação automatizada no QIAcube Connect MDx”.

O utilizador é responsável por validar o desempenho do sistema quanto a quaisquer procedimentos utilizados no seu laboratório que não estejam abrangidos pelos estudos de desempenho da QIAGEN.

Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados de diagnóstico, devem ser utilizados controlos adequados para aplicações a jusante. Para uma validação mais aprofundada, são recomendadas as diretrizes da International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) descritas em ICH Q2 (R1) Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology (Validação de procedimentos analíticos: texto e metodologia).

Todos os resultados de diagnóstico gerados têm de ser interpretados em conjunto com outras descobertas clínicas ou laboratoriais.

## Características de desempenho

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

# Guia de resolução de problemas

Este guia de resolução de problemas pode ser útil para resolver quaisquer problemas que possam surgir. Para obter mais informações, consulte também a página de perguntas frequentes no nosso Centro de apoio técnico: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Os cientistas dos Serviços de Assistência da QIAGEN estão sempre prontos a responder a qualquer questão que possa surgir sobre informações e/ou protocolos constantes deste manual ou sobre as tecnologias de amostragem e ensaio (para informações de contacto, visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

---

## Comentários e sugestões

---

### Manipulação geral

- a) Entupimento das pontas de pipeta durante a transferência de amostras
- Misturar muito bem as amostras de sangue (por exemplo, invertendo os tubos várias vezes) antes da transferência de amostras. As amostras congeladas devem ser descongeladas rapidamente em banho-maria a 37 °C com agitação ligeira, para assegurar a correta homogeneização, devendo depois ser estabilizadas à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar o procedimento.
- Tentar evitar a formação de coágulos de sangue nas amostras e transferir a amostra sem coágulos. O crioprecipitado que se forma durante o descongelamento de amostras congeladas irá obstruir a membrana da coluna de rotação QIAamp Mini ou poderá causar problemas durante o procedimento automatizado.
- b) Coluna de rotação do QIAamp Mini obstruída
- Fluxo de trabalho de rotação:
- Se o lisado não tiver passado completamente através da membrana após a centrifugação a 6000 x g (8000 rpm), centrifugar novamente à velocidade máxima (até 20,800 x g) durante 1 min.
- Se ainda assim o lisado não passar através da membrana durante a centrifugação, eliminar a amostra e repetir o isolamento e a purificação com novo material de amostra, começando pelo primeiro passo.
- Fluxo de trabalho do vácuo:
- Se a taxa de fluxo for reduzida o tempo de vácuo pode ser aumentado.
- Em alternativa, feche a VacValve, caso utilizada, e remova cuidadosamente o conjunto VacConnector-VacValve da coluna para centrifugação do QIAamp Mini sem perder qualquer lisado.
- Remover a coluna de rotação do QIAamp Mini do coletor de vácuo, colocá-la num tubo de lavagem de 2 ml e rodá-la à velocidade máxima até que a amostra tenha passado completamente através da membrana. Substituir o conjunto VacConnector-VacValve que contém o lisado restante. Ligar a bomba de vácuo, abrir a VacValve e continuar a colocar o lisado restante.
- Repetir o procedimento acima caso a coluna de rotação do QIAamp Mini continue a ficar obstruída.
- Se ainda assim o lisado não passar através da membrana durante a centrifugação, eliminar a amostra e repetir o isolamento e a purificação com novo material de amostra, começando pelo primeiro passo.

## Comentários e sugestões

### Informações gerais

Poderão ter-se formado crioprecipitados devido a congelamento e descongelamento repetidos. Isto poderá bloquear a coluna de rotação do QIAamp Mini. Não utilizar amostras de sangue que tenham sido congeladas e descongeladas mais de três vezes. As amostras congeladas devem ser descongeladas rapidamente em banho-maria a 37 °C com agitação ligeira, para assegurar a correta homogeneização, devendo depois ser estabilizadas à temperatura ambiente (15-25 °C) antes de iniciar o procedimento.

- c) Formou-se precipitado no tampão de lise (AL) Dissolva através de incubação do tampão de lise (AL) a 56 °C.
- d) Volumes de eluição variáveis O volume de eluato obtido depende da natureza da amostra. Devido ao tampão de eluição (AE) restante retido pela membrana da coluna de rotação após a centrifugação, o volume de eluato recuperado pode ser mais baixo do que o volume de tampão de eluição aplicado na coluna. Aplicar o tampão de eluição (AE) no centro da membrana. Distribuir o tampão de eluição (AE) no centro da membrana é especialmente importante para volumes de eluição menores, para garantir uma recuperação de ácidos nucleicos e do tampão de eluição (AE) ideais.
- e) Pressão de vácuo de aprox. 800–900 mbar não atingida O coletor de vácuo não está fechado firmemente. Pressionar a tampa do coletor de vácuo depois deste ser ligado. Verificar se a pressão de vácuo é atingida. A junta da tampa do QIAvac desgastou-se. Verificar visualmente o vedante do coletor de vácuo e substituir caso necessário. As VacValves desgastaram-se. Remover todas as VacValves e colocar os VacConnectors (VC) diretamente nas extensões luer. Inserir as colunas de rotação do QIAamp Mini em VacConnectors (VC), fechar a tampa das colunas e ligar o vácuo. Verificar se a pressão de vácuo é atingida. Substituir as VacValves caso necessário. A conexão à bomba de vácuo está com fugas. Fechar as extensões luer com as respetivas tampas e ligar a bomba de vácuo. Verificar se a pressão de vácuo está estável depois da bomba ser ligada (e se a válvula Vacuum Regulator está fechada). Troque as conexões entre a bomba e o coletor de vácuo caso necessário. Se a pressão de vácuo não for atingida, substituir a bomba de vácuo por uma mais potente.
- f) Para problemas com o fluxo de trabalho automatizado Consulte o *Manual do Utilizador do QIAcube Connect MDx* (que pode ser encontrado no separador de recursos da página do produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Rendimento de ADN baixo

- a) Incomplete sample lysis (Lise incompleta da amostra) Se a QIAGEN Protease (QP) foi submetida a temperatura elevada por um período prolongado pode perder atividade. Repetir o processo utilizando novas amostras e uma nova QIAGEN Protease (QP). Certificar-se que a QIAGEN Protease (QP) é dissolvida com solvente de protease (PS) seguindo as instruções acima. Para evitar a formação de espuma, misturar invertendo o tubo várias vezes. Garantir que a QIAGEN Protease (QP) está completamente dissolvida. Não adicionar QIAGEN Protease (QP) diretamente ao tampão de lise (AL).



## Comentários e sugestões

---












	Para assegurar um processo de lise eficaz, é fundamental que a amostra e o tampão de lise (AL) sejam muito bem misturados para se obter uma solução homogênea. Visto que o tampão de lise (AL) tem uma elevada viscosidade, garantir que se adiciona o volume correto de tampão de lise (AL) pipetando com cuidado ou utilizando uma pipeta adequada.
b) Baixa percentagem de etanol utilizada em vez de 96–100%	Repetir o procedimento de purificação com novas amostras e 96-100% de etanol. Não utilizar álcool desnaturado, que contém outras substâncias como metanol ou metil-etil-cetona.
c) O Buffer AW1 ou o Buffer AW2 foram preparados incorretamente	Certificar-se que os concentrados do Buffer AW1 e do Buffer AW2 foram diluídos com o volume correto de etanol de 96–100% e misturados invertendo o frasco várias vezes antes de iniciar o procedimento.
d) As amostras de sangue não foram armazenadas corretamente	O rendimento e a qualidade do ADN purificado dependem das condições de armazenamento do sangue. As amostras de sangue mais recentes podem apresentar melhores resultados. Para o armazenamento a curto prazo durante um máximo de 10 dias, recomendamos o armazenamento a 2–8 °C. No entanto, para aplicações que requeiram um tamanho de fragmento máximo, como, por exemplo, "Southern blotting", recomendamos o armazenamento a 2–8 °C durante um máximo de 3 dias apenas, uma vez que ocorrerão níveis baixos de degradação do ADN depois de decorrido este tempo. Para o armazenamento a longo prazo (mais de 10 dias), realizar a colheita de sangue em tubos que contenham um anticoagulante padrão (de preferência EDTA, caso se trate de ADN de elevado peso molecular) e armazenar a -20 ou -80 °C.
e) As amostras de sangue congeladas não foram devidamente misturadas após descongelamento	As amostras congeladas devem ser descongeladas rapidamente em banho-maria a 37 °C com agitação ligeira, para assegurar a correta homogeneização, devendo depois ser estabilizadas à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de iniciar o procedimento.












### O ADN não atua favoravelmente em reações a jusante







a) Pouco ou nenhum ADN no eluato	Ver a secção "Baixo rendimento de ADN" acima para possíveis razões. Se possível, aumentar a quantidade de eluato adicionada à reação.
b) O volume de eluição utilizado é inapropriado	Determinar o volume máximo de eluato apropriado para a sua aplicação a jusante. Reduzir ou aumentar em conformidade o volume de eluato adicionado à aplicação a jusante. O volume de eluição pode ser adaptado proporcionalmente. A eluição com volumes menores de tampão AE causa maiores concentrações de ácido nucleico mas pode resultar num rendimento total mais baixo.
c) ADN insuficiente utilizado	Quantificar o ADN purificado por medição espectrofotométrica da absorvância a 260 nm.
d) ADN utilizado em excesso	O ADN em excesso pode inibir algumas reações enzimáticas. Quantificar o ADN purificado por medição espectrofotométrica da absorvância a 260 nm.
e) Transferência de possíveis inibidores	Certificar-se que o passo de centrifugação a seco é realizado antes da eluição para prevenir uma possível inibição do ensaio a jusante. É importante utilizar um novo tubo de eluição (ET) para evitar contaminação com resíduos de tampões de lavagem, que pode levar à inibição do ensaio a jusante.

# Símbolos

Os seguintes símbolos aparecem nas instruções de utilização ou na embalagem e nos rótulos:

Símbolo	Definição do símbolo
	Contém reagentes suficientes para <N> reações
	Prazo de validade
	Este produto cumpre os requisitos do Regulamento europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Após a entrega
	Abrir no momento da entrega; conservar as colunas de rotação QIAamp Mini entre 2 e 8 °C
	Número de catálogo
	Número de lote
	Número de material (por ex., rotulagem de componentes)
	Componentes
	Conteúdo

Símbolo	Definição do símbolo
	Número
	Número global de item comercial
Rn	R refere-se à revisão das Instruções de utilização e n é o número da revisão
	Limitação de temperatura
	Fabricante
	Consultar as instruções de utilização
	Volume
	Registrar a data atual depois de adicionar etanol ao recipiente
	Adicionar
	Liofilizado
	Reconstituir em
	Etanol

Símbolo	Definição do símbolo
	Cloridrato de guanidina
	Subtilisina
	Resulta em
	Consultar as instruções de utilização
	Nota importante
	Identificação única do dispositivo

## Informações de encomenda

Produto	Conteúdo	N.º de cat.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Para 50 preparações: Colunas de rotação, tampões, reagentes, tubos, VacConnectors do QIAamp Mini	61104
Produtos relacionados		
QIAcube Connect MDx*	Instrumento e 1 ano de garantia em peças e mão de obra	9003070
Acessórios		
QIAvac 24 Plus†	Coletor de vácuo para processamento de 1-24 colunas de rotação: inclui o QIAvac 24 Plus vacuum manifold, tampões Luer, acoplamentos rápidos	19413
Vacuum Pump (230 V, 50 Hz)†	Bomba de vácuo universal (capacidade 34 litros/min, 8 mbar vácuo abs.)	84020
VacConnectors (500)†	500 conectores descartáveis para utilização com colunas de rotação QIAamp em conectores luer	19407
VacValves (24)	24 válvulas para utilização com o QIAvac 24 e QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	Para utilização com coletores do QIAvac	19530
QIAvac Connecting System	Sistema para conectar o coletor de vácuo com a bomba de vácuo: inclui tabuleiro, frascos de resíduos, tubagem, acoplamentos, válvula, calibre, 24 VacValves	19419

<b>Produto</b>	<b>Conteúdo</b>	<b>N.º de cat.</b>
Rotor Adapters (10 x 24)	Para 240 preparações: 240 adaptadores de rotor descartáveis e 240 tubos de eluição (1,5 ml); para utilização com o QIAcube Connect MDx	990394
Rotor Adapter Holder	Suporte para 12 adaptadores de rotor descartáveis; para utilização com o QIAcube Connect MDx	990392
Sample Tubes CB (2 ml)	1000 tubos cónicos com tampa roscada sem base contornada (2 ml) para utilização com o QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Rolhas de suporte do agitador (12)	9017854
Reagent Bottles, 30 ml (6)	Frascos de reagente (30 ml) com tampas; embalagem de 6; para utilização com o QIAcube Connect MDx	990393
Filter-Tips, 1000 µl (1024)	Pontas com filtro descartáveis, em suporte; (8 x 128). Para utilização com o QIAcube Connect MDx	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (1024)	Pontas com filtro descartáveis, diâmetro amplo, em suporte; (8 x 128); não necessário para todos os protocolos. Para utilização com o QIAcube Connect MDx	990452
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Pontas com filtro descartáveis, em suporte; (8 x 128). Para utilização com os instrumentos QIAcube Connect MDx e QIASymphony SP/AS	990332

\* O QIAcube Connect MDx não está disponível em todos os países. Para obter mais detalhes, consulte os Serviços de Assistência da QIAGEN.

† Para utilização com protocolos de vácuo.

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncias de responsabilidade específicas do produto, consulte as instruções de utilização do respetivo kit QIAGEN. As instruções de utilização do kit QIAGEN estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitadas aos Serviços de Assistência da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

# Histórico de revisões do documento

Revisão	Descrição
R1, junho de 2022	<p>Versão 3, Revisão 1</p> <ul style="list-style-type: none"><li>● Atualização para a Versão 3 do Kit para conformidade com o RDIV</li><li>● Atualização da secção Descrição e princípio</li><li>● Atualização da secção Materiais fornecidos (adição de ingredientes ativos) e Materiais necessários, mas não fornecidos</li><li>● Atualização da secção Avisos e precauções (Adição de informação para casos de emergência e de secção de eliminação)</li><li>● Atualização da secção Armazenamento e manuseamento de reagentes</li><li>● Atualização da secção Colheita, armazenamento e manuseamento de espécimes</li><li>● Atualização da secção Notas importantes e procedimento</li><li>● Atualização da secção Limitações</li><li>● Atualização da secção Características de desempenho</li><li>● Atualização da secção Símbolos</li><li>● Atualização da secção Informações de encomenda</li></ul>

Esta página foi intencionalmente deixada em branco



#### Acordo de licenciamento limitado do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit

A utilização deste produto implica a aceitação dos seguintes termos por parte de qualquer comprador ou utilizador do produto:

1. O produto deverá ser usado unicamente em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e com o presente manual e recorrendo à utilização exclusiva dos componentes contidos no kit. Nos termos dos direitos de propriedade intelectual, a QIAGEN não concede nenhuma licença para usar ou incluir os componentes englobados neste kit com qualquer componente não incluído neste kit, salvo conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, no presente manual e em quaisquer protocolos adicionais disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Alguns dos referidos protocolos adicionais foram fornecidos por utilizadores QIAGEN para utilizadores QIAGEN. Os referidos protocolos não foram testados de forma exaustiva ou otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não assegura nem garante que os referidos protocolos não infringem os direitos de terceiros.
2. À exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este painel e/ou a sua utilização ou utilizações não infringam os direitos de terceiros.
3. Este painel e respetivos componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, reconicionados ou objeto de revenda.
4. A QIAGEN recusa especificamente qualquer outra licença, expressa ou implícita, à exceção das expressamente declaradas.
5. O comprador e o utilizador do painel concordam em não tomar nem permitir que terceiros tomem medidas que possam conduzir a ou facilitar qualquer dos atos acima proibidos. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições do presente Contrato de licença limitada através de qualquer tribunal e deverá recuperar todas as custas judiciais e de investigação em que incorra, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir o presente Contrato de licença limitada ou qualquer um dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao painel e/ou aos seus componentes.

Para obter os termos de licença atualizados, visite [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marcas comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp®, QIAcube® (QIAGEN Group); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co. KG).

Jun-2022 HB-3030-001 1 127543 © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.

