

Janeiro de 2021

Instruções de utilização do QIAamp[®] DSP DNA Blood Mini Kit (Manual)



Versão 2



Para utilização em diagnóstico in vitro



61104



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden
Tel.: +49-2103-29-0



1122788PT



Índice

Utilização prevista	5
Descrição e princípio	6
Lise das células do sangue	6
Ligação do ADN genómico à membrana da coluna de rotação QIAamp Mini	6
Purificação automatizada no QIAcube/QIAcube Connect MDx.....	7
Resumo e explicação	10
Materiais fornecidos	11
Conteúdo do kit	11
Materiais necessários, mas não fornecidos.....	12
Avisos e precauções	14
Informações de segurança.....	14
Armazenamento e manuseamento de reagentes	16
Armazenamento e manuseamento de amostras	16
Remoção de contaminantes residuais.....	18
Eluição de ADN genómico puro.....	18
Notas importantes	19
Pontos importantes antes de iniciar um protocolo	19
Preparação de reagentes e tampões.....	20
Manuseamento de colunas de rotação QIAamp Mini	21
Eluição de ADN genómico	22
Rendimento e qualidade do ADN genómico.....	22
Montagem do sistema de vácuo QIAvac 24 Plus	22

Procedimento	25
Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando um sistema de vácuo.....	25
Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando uma microcentrífuga ou o QIAcube/QIAcube Connect MDx	29
Controlo de qualidade	33
Limitações	33
Características de desempenho	34
Símbolos	39
Informações de encomenda	41
Histórico de revisões do documento.....	43

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

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

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 2 procedimentos alternativos do QIAamp DSP DNA Blood Mini: o procedimento de centrifugação, que requer uma centrifuga, e o procedimento de vácuo, que requer uma centrifuga e um sistema de vácuo (consultar o fluxograma, página 9). O procedimento de centrifugação pode ser automatizado no QIAcube e no QIAcube Connect MDx.

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.

Purificação automatizada no QIAcube/QIAcube Connect MDx

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

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

Em caso de automatização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit nos instrumentos QIAcube ou QIAcube Connect MDx, estes poderão 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.

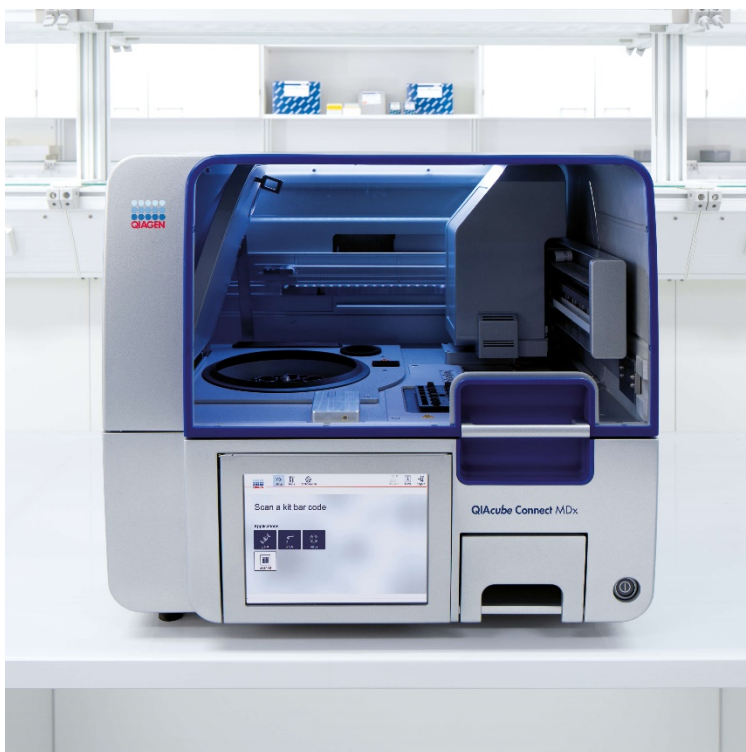
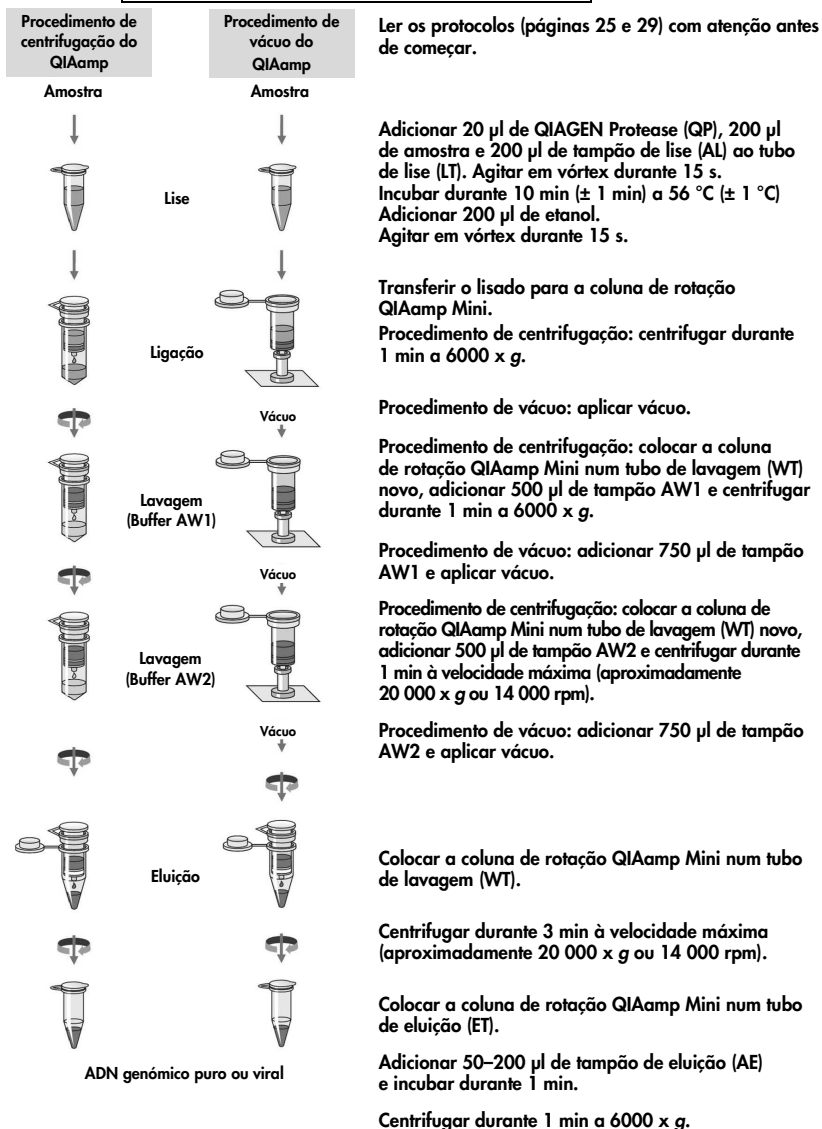


Figura 2. O QIAcube Connect MDx.

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.







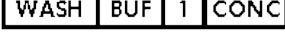





Os procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini, que foram concebidos para permitir o processamento simultâneo de várias amostras de sangue, produzem ADN puro pronto para ser utilizado. Estes procedimentos são adequados para serem utilizados com amostras de sangue total fresco ou congelado, tratado com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

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 ou QIAcube Connect MDx para uma maior padronização e facilidade de utilização (página 7).

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 fica pronto a ser utilizado em PCR ou noutras aplicações ou, alternativamente, pode ser armazenado a temperaturas entre -25 °C e -15 °C para utilização posterior.

Materiais fornecidos

Conteúdo do kit

QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit			
N.º de catálogo			61104
Número de preparações			50*
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) [†] (concentrado)		19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Tampão de lavagem 2) [†] (concentrado)		13 ml
AE	Elution Buffer (Tampão de eluição) [†]		25 ml
PS	Protease Solvent (Solvente de protease) [†]		2 ml
QP	QIAGEN Protease [§]		1 frasco
-	Instruções de utilização (Manual)		1

* Em caso de automatização do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit no instrumento QIAcube ou 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.

[†] Contém cloridrato de guanidina. Não compatível com desinfetantes que contenham lixívia. Para obter mais informações, consultar Informações de segurança na página 14.

[‡] Contém azida de sódio como conservante.

[§] Volume de ressuspensão 1,2 ml. Consultar "Preparação de reagentes e tampões" na página 19.

Materiais necessários, mas não fornecidos

Ao trabalhar com substâncias químicas, utilize sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (FDS) apropriadas, disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

Para os procedimentos de centrifugação e de vácuo

- Etanol (96–100%)
- Pipetas* e pontas de pipeta (para evitar contaminação cruzada, é recomendada a utilização de pontas de pipeta com proteção contra aerossóis)
- Luvas descartáveis
- Bloco de aquecimento* para a lise de amostras a 56 °C (recomenda-se Eppendorf® Thermomixer® Comfort com bloco térmico 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
- VacConnectors (n.º de cat. 19407)
- 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)

* 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.

† Esta não se trata de uma lista completa de fornecedores nem inclui muitos distribuidores importantes de produtos biológicos.

Somente para o procedimento automatizado

- 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)

Avisos e precauções

Tenha em atenção que poderá ser necessário comunicar incidentes graves que tenham ocorrido em relação ao dispositivo ao fabricante e à autoridade reguladora na qual o utilizador e/ou o paciente estão estabelecidos.

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 (FDS) adequadas. Estas estão disponíveis online em formato PDF prático e compacto em www.qiagen.com/safety, onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a FDS de cada kit QIAGEN e respetivos componentes.



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

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 do tampão estiverem danificados ou apresentarem fugas, utilizar luvas e óculos de proteção ao descartar os frascos 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.

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

Tampão de lise (AL) e tampão de lavagem 1 (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.

QIAGEN Protease (QP)



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 as 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: Enxaguar 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. Retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.



Armazenamento e manuseamento de reagentes

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.

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. A QIAGEN Protease reconstituída mantém-se estável até 1 ano, desde que seja armazenada a temperaturas entre 2 e 8 °C, mas só até ao fim da data de validade do kit.

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

Armazenamento e manuseamento de amostras

O crioprecipitado que se forma durante o descongelamento de amostras congeladas irá obstruir a membrana da coluna de rotação QIAamp Mini. Se o crioprecipitado for visível, evite a sua aspiração durante a aspiração da amostra. Foram determinados os efeitos do congelamento e descongelamento de amostras de sangue para purificação de ADN ao utilizar o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (consultar a Figura 3).

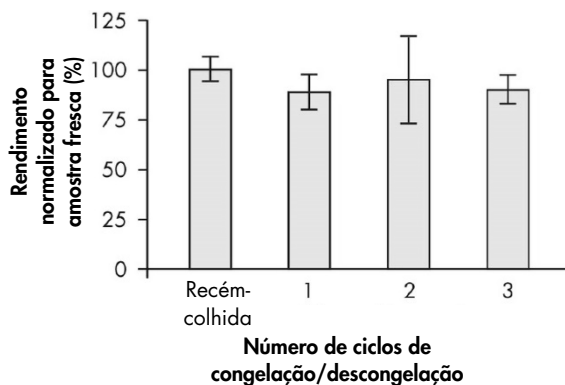


Figura 3. Efeitos do congelamento e descongelamento de amostras de sangue. O sangue tratado com EDTA foi congelado e descongelado até 3 vezes e, em seguida, foi submetido a purificação de ADN com o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Os rendimentos calculados de ADN são normalizados para o rendimento de uma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

A quantidade de ADN purificado nos procedimentos do QIAamp DSP DNA Blood Mini depende da quantidade de glóbulos brancos presente em cada amostra de sangue. Utilizando o procedimento de centrifugação ou vácuo, o ADN genómico é purificado a partir de 200 μ l 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

Purificou-se ADN genómico a partir de 200 µl de amostras de sangue de doadores saudáveis (4,0 a 9,0 x 10⁶ células por ml).

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

Remoção de contaminantes residuais

Enquanto o ADN genómico permanecer ligado à membrana da QIAamp Mini Spin Column, 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 QIAamp Mini Spin Column 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*.

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 14). 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.
- Realizar todos os passos correspondentes à centrifugação à temperatura ambiente (15–25 °C).
- Utilizar sempre luvas descartáveis 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.
- 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. Assegurar 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 frasco 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 demonstra 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.
- Trocar sempre as pontas das pipetas entre cada transferência de líquidos. Recomenda-se a utilização de pontas de pipeta com proteção contra aerossóis.
- Evitar tocar com a ponta de pipeta na membrana da coluna de rotação QIAamp Mini.
- 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.
- Abrir apenas uma coluna de rotação QIAamp Mini de cada vez e ter cuidado para evitar a formação de aerossóis.
- Utilizar luvas durante todo o procedimento. Em caso de contacto entre as luvas e a amostra, troque imediatamente de luvas.

Eluição de ADN genómico

O volume de ADN eluído a partir de uma coluna de rotação QIAamp Mini pode ser até 20 µl inferior ao volume de tampão de eluição (AE) aplicado à coluna. O volume de eluato obtido depende da natureza da amostra. O tampão de eluição (AE) deve ser equilibrado à temperatura ambiente (15–25 °C) antes de ser aplicado à coluna. O ADN eluído é colhido em tubos de eluição (ET). Para conservar o ADN durante até 4 semanas, recomenda-se o armazenamento a 2–8 °C. Para conservação a longo prazo, conservar entre -30 e -15 °C.

Rendimento e qualidade do ADN genómico

O rendimento e a qualidade do ADN genómico isolado permitem que o mesmo possa ser utilizado em vários tipos de procedimentos de deteção a jusante em diagnósticos moleculares. Os ensaios de diagnóstico devem ser realizados de acordo com as instruções do fabricante.

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 4).

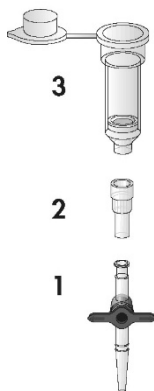


Figura 4. Montagem de componentes do QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit para o processamento de amostras em vácuo.
(1) VacValve (2) VacConnector (VC) (3) Coluna de rotação QIAamp Mini

Ao utilizar o procedimento de vácuo com o sistema de vácuo 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 5 (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: _____

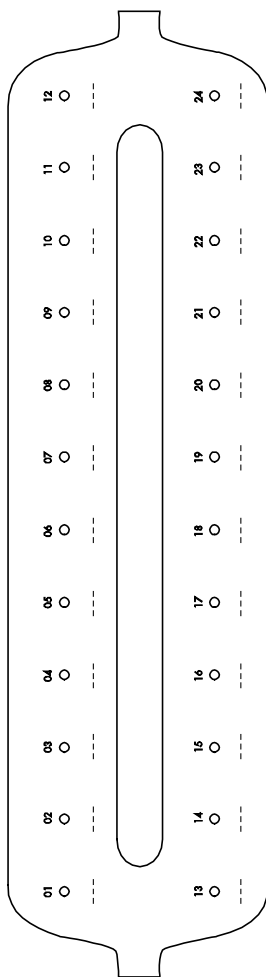


Figura 5. Esquema de legenda para tubos de lise (LT), tubos de eluição (ET) e colunas de rotação QIAamp Mini para utilização no sistema de vácuo QIAvac 24 Plus.

Procedimento

Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando 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.

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 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.
- Caso se tenha formado um precipitado no tampão de lise (AL), dissolver o mesmo incubando a 56 °C.
- 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 20.
- Equilibrar o tampão de eluição (AE) à temperatura ambiente para utilizar no passo 14.
- Aquecer um bloco de aquecimento a 56 °C para utilizar no passo 4.
- Para minimizar a contaminação cruzada, inserir um VacConnector (VC) em cada adaptador luer do sistema de vácuo.

- Os procedimentos de controlo de qualidade da QIAGEN utilizam testes funcionais de libertação de kits para cada lote individual de kits. Por conseguinte, é imperativo não misturar reagentes de lotes de kits diferentes e não combinar reagentes individuais de lotes de reagentes diferentes.
- 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.

Procedimento

1. Pipetar 20 µl de QIAGEN Protease (QP) para um tubo de lise (LT).

Nota: 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 de tampão de lise (AL) ao tubo de lise (LT), fechar a tampa e misturar por agitação em vórtex pulsado durante 15 s.

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.

Nota: 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.

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

4. Incubar a 56 °C (± 1 °C) durante 10 min (± 1 min).
5. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante ≥ 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 ≥ 15 s.
7. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante ≥ 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.

Nota: Ao processar várias amostras, abrir apenas 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.

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

Nota: 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.

Nota: 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 $6000 \times g$ (8000 rpm) durante 3 min ou até que o lisado tenha passado completamente através da mesma. Colocar a coluna de rotação QIAamp Mini noutra tubo de lavagem (WT) limpo e continuar com o passo 10 do protocolo na página 31.

Nota: 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 30.

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.
Nota: 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) 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. 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.
Nota: Seguir o procedimento de manutenção do sistema de vácuo após realizar este protocolo (para obter mais detalhes, consultar o manual fornecido referente ao sistema de vácuo).

Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando uma microcentrífuga ou o QIAcube/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 ou 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 nos instrumentos QIAcube ou QIAcube Connect MDx.
- Para automatização, seguir as instruções nas folhas de protocolo (QIAcube) ou no ecrã do software (QIAcube Connect MDx) e no *Manual do utilizador do QIAcube ou do QIAcube Connect MDx*.

Passos a seguir antes de começar

- Equilibrar as amostras de sangue à temperatura ambiente e assegurar que as mesmas estão bem misturadas.
- Caso se tenha formado um precipitado no tampão de lise (AL), dissolver o mesmo incubando a 56 °C.
- 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 20.
- Equilibrar o tampão de eluição (AE) à temperatura ambiente para utilizar no passo 15.
- Aquecer um bloco de aquecimento a 56 °C para utilizar no passo 4.

- Os procedimentos de controlo de qualidade da QIAGEN utilizam testes funcionais de libertação de kits para cada lote individual de kits. 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 microcentrífuga, siga os passos 1–15.
- Este procedimento pode ser automatizado em 3 versões diferentes:
 - Volume de eluição: Automatização completa de 100 µl com 100 µl de volume de eluição (começando do passo 1)
 - Volume de eluição: Automatização completa de 200 µl com 200 µl de volume de eluição (começando do passo 1)
 - Lise manual: parcialmente automatizada com lise manual realizada fora do instrumento (começando após o passo 5)

1. Pipetar 20 µl de QIAGEN Protease (QP) para um tubo de lise (LT).

Nota: 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 de tampão de lise (AL) ao tubo de lise (LT), fechar a tampa e misturar por agitação em vórtex pulsado durante 15 s.

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.

Nota: 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.

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

4. Incubar a 56 °C (\pm 1 °C) durante 10 min (\pm 1 min).

5. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante ≥ 5 s à velocidade máxima para remover as gotas do interior da tampa.

Nota: Se a lise manual (passos 1–5) tiver sido realizada fora do instrumento, os passos seguintes (passos 6–15) podem ser automatizados no QIAcube ou QIAcube Connect MDx utilizando o protocolo de lise manual.

6. Adicionar 200 μ l de etanol (96–100%) ao tubo de lise (LT), fechar a tampa e misturar bem por agitação em vórtex pulsado durante ≥ 15 s.
7. Centrifugar o tubo de lise (LT) durante ≥ 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.

Nota: Ao processar várias amostras, abrir apenas 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.

Nota: 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.

Nota: 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 30.

10. Abrir cuidadosamente a coluna de rotação QIAamp Mini e adicionar 500 μ l 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 (aproximadamente 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.
 14. Centrifugar à velocidade máxima (aproximadamente 20 000 x g ou 14 000 rpm) durante 3 min para secar completamente a membrana.

Nota: A omissão da secagem por centrifugação pode resultar em inibição do ensaio a jusante.

15. Colocar a coluna de rotação QIAamp Mini num tubo de eluição (ET) 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. 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.

Nota importante: No caso de todos os procedimentos automatizados, remova os eluatos do instrumento diretamente após terminar a execução e armazene-os adequadamente.

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 predefinidas para garantir uma qualidade consistente do produto.

Limitações

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

O utilizador é responsável por validar o desempenho do sistema para 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).

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

Características de desempenho

Rendimento de ADN purificado

O intervalo linear de rendimento de ADN utilizando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini foi determinado para sangue de doadores saudáveis com uma contagem de glóbulos brancos de $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ células/ml (consultar a Figura 6).

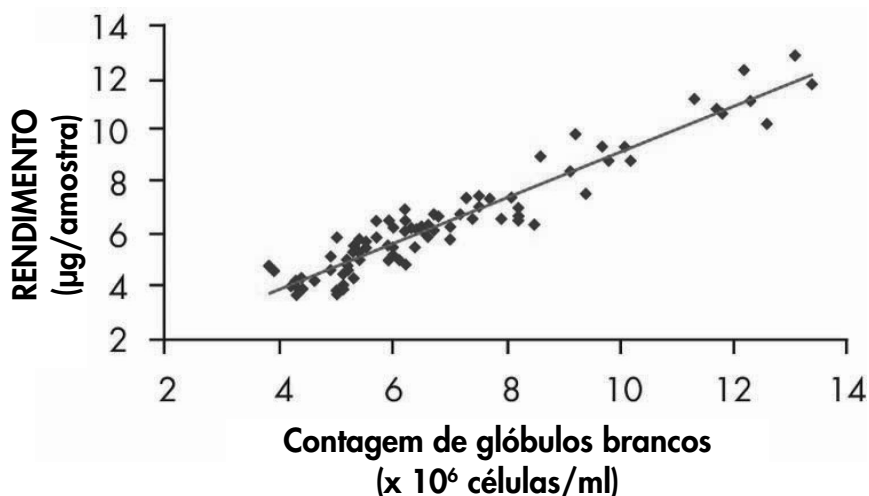


Figura 6. Intervalo linear de rendimento de ADN utilizando o procedimento de vácuo do QIAamp DSP DNA Blood Mini com um volume de eluição de 200 µl. A contagem de glóbulos brancos de doadores saudáveis foi determinada e situou-se dentro do intervalo de $3,8 \times 10^6$ – $1,34 \times 10^7$ células/ml. 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.

Desempenho em ensaios a jusante

O ADN genómico eluído está pronto a ser utilizado em diferentes ensaios a jusante, incluindo uma variedade de ensaios a jusante de diagnóstico in vitro (Tabela 2 a Tabela 6). Foram determinados os efeitos do volume de eluição e do volume de eluato utilizados em PCR no desempenho da PCR (consultar a Tabela 7).

Tabela 2. Tipagem de HLA utilizando ensaios SSP Dynal® AllSet™ de HLA-A de "Baixa resolução", HLA-B de "Baixa resolução", DR de "Baixa resolução" e DQ de "Baixa resolução"

Locus A de HLA		Locus B de HLA		Locus DR de HLA		Locus DQ de HLA	
Genótipo	N.º	Genótipo	N.º	Genótipo	N.º	Genótipo	N.º
A2/A3	2	B51, B51/ B13 ou B51/B27	1	DR1/DR3	1	DQ2	1
A3/A1	1	B13/B35	1	DR3 ou DR3/DR13	1	DQ2/DQ3	2
A3/A25	1	B8/B27	1	DR3/DR7	1	DQ6	1
A2/A24	2	B7/B13 ou B7/B15	1	DR7/DR15	2	DQ2/DQ5	1
A1/A2	2	B7/B18	1	DR4/DR15	1	DQ2/DQ5	2
A30/A68	1	B7/B44	1	DR4/DR7	1	DQ3	1
A2/A32	1	Outro	0	DR4	1	DQ3/DQ6	2
Outro	0			DR15	1	Outro	0
				DR1/DR7	1		
				Outro	0		

O sangue total foi colhido de doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. Foram identificados alelos nos loci indicados no número de indivíduos especificado utilizando ensaios SSP Dynal AllSet* (Thermo Fisher Scientific ou suas subsidiárias). N.º: número de indivíduos.

Tabela 3. Genotipagem Factor V Leiden (FV) utilizando o kit de deteção de mutações LightCycler® Factor V Leiden

Genótipo	Número
Tipo selvagem	17
FV G16191 A heterozigótico	13
FV G16191 A homozigótico	0

O sangue total foi colhido de 30 doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. O estado alélico no locus FV G1691 A foi determinado utilizando o kit de deteção de mutações LightCycler Factor V Leiden (Roche Group).

Tabela 4. Genotipagem Factor V Leiden (FV) utilizando PCR de ponto final e a análise Pyrosequencing® com o PSQ-96 SNP Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA

Genótipo	Número
Tipo selvagem	17
FV G16191 A heterozigótico	13
FV G16191 A homozigótico	0

O sangue total foi colhido de 30 doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. O estado alélico no locus FV G1691 A foi determinado utilizando PCR de ponto final e a análise Pyrosequencing com o PSQ-96 SNP Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabela 5. Genotipagem de protrombina (PT) utilizando PCR de ponto final e a análise Pyrosequencing com o PSQ-Q96 SNP Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA

Genótipo	Número
Tipo selvagem	30
PT G20210A heterozigótico	0
PT G20210A homozigótico	0

O sangue total foi colhido de 30 doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. O estado alélico no locus PT G20210A foi determinado utilizando PCR de ponto final e a análise Pyrosequencing com o PSQ-96 SNP Reagent Kit no Pyrosequencing PSQ 96MA (Biotage).

Tabela 6. Análise de polimorfismos T112C e C158T do gene ApoE utilizando PCR de ponto final, com sequenciação de amplicon utilizando o BigDye® v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit e separação no ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer

Genótipo	Número
ApoE*3/*3	5
ApoE*3/*4	5
Outro	0

O sangue total foi colhido de 10 doadores individuais e o ADN genómico foi purificado a partir de 200 µl de sangue total utilizando o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit. A análise de polimorfismos T112C e C158T do gene ApoE foi efetuada utilizando PCR de ponto final, com sequenciação de amplicon utilizando o BigDye v1.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit e separação no ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific ou suas subsidiárias).

Tabela 7. Efeitos do volume de eluição e do volume de eluato utilizados em PCR no desempenho da PCR

Volume de eluição	Volume de eluato por 50 µl de PCR*		
	2 µl	5 µl	10 µl
50 µl	100%	100%	100%
100 µl	100%	100%	97%
200 µl	100%	100%	100%













* Os valores mostram as taxas de êxito da PCR e representa a média de 48 amostras.










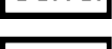




Estabilidade do eluato

Em testes de conservação com eluatos produzidos utilizando o QIAamp DNA Blood Mini Kit, um kit de utilização laboratorial geral com tecnologia idêntica, foi demonstrado que o ADN eluído das QIAamp Mini Spin Columns em Buffer AE permanece estável durante 8 anos quando armazenado a temperaturas entre 2 e 8 °C ou entre -30 e -15 °C (Figura 7). No entanto, estão a ser realizados estudos sobre a estabilidade a longo prazo de eluatos obtidos com o QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit.

Símbolos

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

Símbolo	Definição do símbolo
	Contém reagentes suficientes para <N> reações
	Prazo de validade
	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
	Número
	Número global de item comercial
Rn	R refere-se à revisão das Instruções de utilização e n é o número da revisão

Símbolo	Definição do símbolo
	Limitação de temperatura
	Fabricante
	Consultar as instruções de utilização
	Volume
	Anotar a data atual depois de adicionar etanol ao frasco
	Adicionar
	Liofilizado
	Reconstituir em
	Etanol
	Cloridrato de guanidina
	Subtilisina
	Resulta em
	Consultar as instruções de utilização
	Nota importante

Informações de encomenda

Produto	Índice	N.º de cat.
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit (50)	Para 50 preparações de ADN: colunas de rotação QIAamp Mini, VacConnectors, QIAGEN Protease, reagentes, tampões e tubos de colheita	61104
Produtos relacionados		
QIAcube Connect MDx*	Instrumento e 1 ano de garantia em peças e mão de obra	9003070
Acessórios		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold†	Coletor de vácuo para processamento de 1–24 colunas de rotação: Coletor de vácuo QIAvac 24 Plus, tampões luer, acoplamentos rápidos	19413
Vacuum Pump†	Bomba de vácuo universal	84020
VacConnectors†	500 conectores descartáveis para utilização com colunas de rotação QIAamp em conectores luer	19407
Rotor Adapters	Para 240 preparações: 240 adaptadores de rotor descartáveis e 240 tubos de eluição (1,5 ml); para utilização com o QIAcube	990394
Rotor Adapter Holder	Suporte para 12 adaptadores de rotor descartáveis; para utilização com o QIAcube	990392

Produto	Índice	N.º de cat.
Sample Tubes CB	1000 tubos cónicos com tampa roscada sem base contornada (2 ml) para utilização com o QIAcube e o QIAcube Connect MDx	990382
Shaker Rack Plugs	Para carregar o suporte do agitador do QIAcube	9017854
Reagent Bottles, 30 ml	Frascos de reagente (30 ml) com tampas; embalagem de 6; para utilização com o QIAcube	990393
Filter-Tips, 1000 µl	Pontas com filtro descartáveis, em suporte; (8 x 128). Para utilização com o QIAcube	990352
Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore	Pontas com filtro descartáveis, diâmetro amplo, em suporte; (8 x 128); não necessário para todos os protocolos. Para utilização com o QIAcube	990452
Filter-Tips, 200 µl	Pontas com filtro descartáveis, em suporte; (8 x 128). Para utilização com os instrumentos QIAcube 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 isenções de responsabilidade específicas do produto, consulte o respetivo manual do utilizador ou o manual do kit QIAGEN. Os manuais do utilizador e os manuais de kits QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados aos serviços de assistência da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Histórico de revisões do documento

Revisão	Descrição
R2, 01-2021	<p>Atualizações às secções Purificação automatizada no QIAcube/QIAcube Connect MDx, Avisos e precauções e Protocolo: Isolamento e purificação de ADN genómico a partir de amostras de sangue utilizando uma microcentrifuga ou o QIAcube/QIAcube.</p> <p>Foram adicionadas referências ao QIAcube Connect MDx e respetivos acessórios.</p> <p>Foi removida a referência ao CD na secção Conteúdo do kit.</p> <p>Alterações esquemáticas e editoriais.</p>

Esta página foi deixada intencionalmente em branco.

Esta página foi deixada intencionalmente 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 de 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. 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 infringem 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 Acordo de licenciamento limitado em qualquer tribunal e deverá recuperar todas as custas de tribunal e de investigação em que incorra, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir o presente Acordo de licenciamento limitado 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.

Marcas comerciais: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *artus*®, Pyrosequencing® (QIAGEN Group); BD®, Vacutainer® (Becton, Dickinson and Company); Bio-One®, Vacuette®, Greiner Bio-One® (Greiner Bio-One GmbH); Eppendorf®, Thermomixer® (Eppendorf AG); LightCycler® (Roche Group); Monovette®, Sarstedt® (Sarstedt AG & Co.); ABI PRISM®, *AllSer*™, BigDye®, Dyna® (Thermo Fisher Scientific ou suas subsidiárias). Os nomes registados, as marcas comerciais etc. utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados especificamente como tal, não devem ser considerados como não protegidos por lei.

01-2021 1122788 HB-1205-002 © 2021 QIAGEN, todos os direitos reservados.

Encomendas www.qiagen.com/shop | Assistência técnica support.qiagen.com | Website www.qiagen.com