

Fevereiro de 2023

# Instruções de uso (Manual) do QIAamp<sup>®</sup> DSP DNA FFPE Tissue Kit



Versão 2

**IVD**

Para uso em diagnóstico in vitro

Para uso com o QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit



Número de referência

**REF**

60404



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA

R2 **MAT**

1130780PTBR

# Conteúdo

Uso pretendido.....	4
Usuário previsto .....	4
Descrição e princípio .....	5
Resumo e explicação .....	5
Princípio do procedimento.....	5
Materiais fornecidos .....	7
Conteúdo do kit .....	7
Componentes do kit.....	8
Materiais necessários, mas não fornecidos .....	9
Reagentes adicionais .....	9
Consumíveis .....	9
Equipamento.....	9
Avisos e precauções .....	10
Informações de segurança.....	10
Informações de emergência.....	11
Precauções .....	11
Descarte.....	12
Armazenamento e manuseio de reagentes .....	13
Estabilidade em uso.....	13
Armazenamento e manuseio de espécimes.....	14
Procedimento .....	15
Protocolo: Isolamento de DNA genômico de seções de tecido FFPE.....	21

Controle de qualidade .....	25
Limitações.....	26
Características de desempenho .....	27
Guia de solução de problemas .....	28
Símbolos .....	30
Anexo: Manipulação .....	33
Informações sobre pedidos .....	34
Histórico de revisões do documento.....	35

## Uso pretendido

O QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit é um sistema que usa tecnologia de membrana de sílica (Tecnologia QIAamp) para o isolamento e purificação de DNA genômico a partir de amostras biológicas fixadas em formalina e incluídas em parafina (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded, FFPE).

Destina-se ao preparo manual de amostras e não fornece resultados de testes, qualitativos ou quantitativos.

## Usuário previsto

O produto deve ser usado por usuários profissionais, como técnicos e médicos, que são treinados em técnicas biológicas moleculares para fins de diagnóstico *in vitro* (in vitro diagnostic, IVD).

# Descrição e princípio

## Resumo e explicação

O QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit é utilizado para purificação do DNA de seções de tecido FFPE. Ele utiliza a consagrada microtecnologia de DNA QIAamp para a purificação de DNA genômico e mitocondrial de pequenos volumes ou tamanhos de amostra. O kit combina as propriedades de ligação seletiva de uma membrana à base de sílica com volumes de eluição flexíveis.

As condições de lise permitem purificar eficazmente DNA genômico de seções de tecido FFPE sem a necessidade de incubar durante a noite. A incubação a uma temperatura elevada após a digestão de Proteinase K remove parcialmente a ligação cruzada de formalina do DNA liberado, melhorando potencialmente o rendimento, bem como o desempenho do DNA em ensaios posterior. Observe que o DNA isolado de amostras FFPE tem um peso molecular normalmente inferior ao do DNA de amostras frescas ou congeladas. O grau de fragmentação depende do tipo e da idade da amostra, bem como das condições utilizadas para a fixação.

Após a lise das amostras, o procedimento simples do QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit é adequado para o processamento de várias amostras em simultâneo.

É responsabilidade do usuário validar o desempenho do sistema para quaisquer procedimentos usados em seu laboratório que não sejam abrangidos pelos estudos de desempenho da QIAGEN® descritos no manual.

## Princípio do procedimento

O procedimento do QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit consiste em seis etapas (Figura 1):

- Remoção da parafina: A parafina é dissolvida em xileno e removida.
- Lise: A amostra é lisada a 56 °C sob condições de desnaturação com Proteinase K.

- Aquecimento: Uma incubação a 90 °C reverte a ligação cruzada de formalina.
- Ligação: O DNA se liga à membrana e os contaminantes fluem.
- Lavagem: Os contaminantes residuais são arrastados.
- Eluição: O DNA puro concentrado é eluído da membrana.

### Procedimento do QIAamp DSP DNA FFPE Tissue

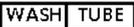
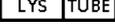


Figura 1. Procedimento do QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit.

# Materiais fornecidos

## Conteúdo do kit

<b>QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit</b>	<b>(50)</b>
<b>N° de referência</b>	<b>60404</b>
<b>Número de preparos</b>	<b>50</b>

	Identificação	Símbolos	Quantidade
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute Columns with Wash Tubes (Colunas QIAamp MinElute com tubos de lavagem)		50
WT	Wash Tubes (Tubos de lavagem) (2 ml)		3 x 50
ET	Elution Tubes (Tubos de eluição) (1,5 ml)		50
LT	Lysis Tubes (Tubos de lise) (2 ml)		50
ATL	Tissue Lysis Buffer (Tampão de lise de tecido)		10 ml
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
ATE	Elution Buffer (Tampão de eluição)†		12 ml
PK	Proteinase K		1,25 ml
–	Instruções de uso (Manual)		1

\* Contém um sal de guanidina. Não compatível com desinfetantes que contenham água sanitária. Consulte a página 10 sobre Avisos e precauções.

† Contém azida de sódio como conservante.

## Componentes do kit

Os componentes principais do kit são explicados abaixo.

**Tabela 1. Ingredientes ativos nos reagentes fornecidos**

Reagente		Ingrediente(s) ativo(s)	Concentração (w/w) [%]
Símbolo	Nome		
ATL	Buffer ATL	Dodecil sulfato de sódio	≥1 a <10
AL	Buffer AL	Cloridrato de guanidina Ácido maleico	>30 a <50 ≥0,1 a <1
AW1	Buffer AW1	Cloridrato de guanidina Etanol	≥50 a <70 ≥10 a <90
AW2	Buffer AW2	Etanol	≥10 a <90
ATE	Buffer ATE	Nenhum	-
PK	Proteinase K	Proteinase K	≥1 a <10

Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados do diagnóstico gerados após o isolamento do DNA, devem ser usados os controles adequados para aplicações a jusante.

# Materiais necessários, mas não fornecidos

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre use um jaleco apropriado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas disponibilizadas pelo fornecedor do produto.

## Reagentes adicionais

- Xileno
- Etanol (96–100%)\*

## Consumíveis

- Se for tomada a decisão de não usar os tubos fornecidos no kit, recomendamos os tubos da microcentrífuga de 1,5 ou 2 ml (para etapas de lise) e os tubos da microcentrífuga de 1,5 ml (para etapas de eluição) (por ex., disponíveis da Sarstedt®, n° de ref. 72.690). Recomendamos tubos cônicos com tampa de segurança sem DNase/RNase. É responsabilidade do usuário validar o desempenho do sistema para quaisquer procedimentos usados em seu laboratório que não sejam abrangidos pelos estudos de desempenho da QIAGEN.
- Pipetas e ponteiros de pipeta (para evitar a contaminação cruzada, recomendamos fortemente as ponteiros de pipetas com barreiras contra aerossóis)

## Equipamento†

- Termomisturador‡, incubador orbital aquecido, bloco de aquecimento ou banho-maria com capacidade de incubação a 56 °C, 70 °C e 90 °C
- Microcentrífuga† com rotor para tubos de 2 ml
- Agitador tipo vórtex

\* Não use álcool desnatado, que contém outras substâncias, como metanol ou metiletilcetona.

† Antes do uso, certifique-se de que os instrumentos tenham sido verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

‡ Para garantir que as amostras sejam processadas corretamente nos procedimentos QIAamp DSP DNA FFPE, é altamente recomendável que os instrumentos sejam calibrados de acordo com as recomendações dos fabricantes.

## Avisos e precauções

Com base na gestão de risco da QIAGEN, todas as medidas de controle de risco previstas foram implementadas no design do produto. O risco residual geral é considerado aceitável e o uso do dispositivo é considerado seguro. Este manual contém instruções, avisos e precauções para garantir a segurança e o desempenho do dispositivo. O manual deve ser seguido rigorosamente.

Esteja ciente de que poderá ser necessário consultar seus regulamentos locais para relatar incidentes graves que tenham ocorrido com o dispositivo ao fabricante e/ou seu representante autorizado e à autoridade regulatória na qual o usuário e/ou o paciente estão estabelecidos.

### Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, sempre use um jaleco apropriado, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas. Elas estão disponíveis online em formato PDF conveniente e compacto, em [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a SDS para cada kit e componente do kit QIAGEN.

CUIDADO



NÃO adicione alvejante ou soluções ácidas diretamente nos resíduos do preparo de amostras.

- O Buffer AL e o Buffer AW1 contêm cloridrato de guanidina, que pode formar compostos altamente reativos quando misturados com alvejante.
- Se líquido contendo esses tampões for derramado, limpe com água e detergente de laboratório adequado. Se o líquido derramado tiver agentes potencialmente infecciosos, limpe primeiro a área afetada com detergente de laboratório e água e, em seguida, com hipoclorito de sódio a 1% (v/v).

- Espécimes e amostras são potencialmente infecciosos. Descarte os resíduos das amostras e dos ensaios de acordo com os procedimentos de segurança locais.

## Informações de emergência

CHEMTREC

EUA e Canadá 1-800-424-9300

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

## Precauções

### Buffer AL



Contém: cloridrato de guanidina e ácido maleico. Aviso! Pode ser prejudicial se ingerido ou inalado. Provoca irritação da pele. Causa irritação grave nos olhos. Pode causar reação alérgica na pele. Se a irritação nos olhos persistir: consulte um médico. EM CASO DE CONTATO COM OS OLHOS: Enxágue cuidadosamente com água por vários minutos. Remova lentes de contato, se presentes e fáceis de remover. Continue enxaguando. Retire a roupa contaminada e lave-a, antes de usá-la novamente. SE EM CONTATO COM A PELE: Lavar com água e sabonete em abundância. Se houver irritação na pele: consulte um médico. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

### Buffer ATL



Aviso! Causa irritação leve da pele. Se houver irritação na pele: consulte um médico.

### Buffer AW1



Contém: cloridrato de guanidina. Aviso! Nocivo, se engolido ou inalado. Provoca irritação da pele. Causa irritação grave nos olhos. Ligue para um CENTRO DE CONTROLE DE INTOXICAÇÕES E ENVENENAMENTOS ou médico, se não se sentir bem. Elimine o conteúdo/recipiente em um local de eliminação de resíduos aprovado. Retire a roupa contaminada e lave-a, antes de usá-la novamente. Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.

### Proteinase K



Contém: Proteinase K. Perigo! Causa irritação leve da pele. Se inalada, pode causar sintomas de asma ou alergia ou dificuldades respiratórias. Evite respirar poeira/fumaça/gás/névoa/vapores/spray. Elimine o conteúdo/recipiente em um local de eliminação de resíduos aprovado. Se tiver sintomas respiratórios: ligue para um CENTRO DE CONTROLE DE INTOXICAÇÕES E ENVENENAMENTOS ou médico. SE INALADO: Se houver dificuldade para respirar, leve a vítima a um local com ar livre e deixe-a em repouso em uma posição confortável para respirar. Use proteção respiratória.

## Descarte

O resíduo contém amostras e reagentes. Esse resíduo pode conter material tóxico ou infeccioso e deve ser descartado adequadamente. Consulte os regulamentos de segurança locais para ver quais são os procedimentos de descarte adequados.

Para obter mais informações, consulte as folhas de dados de segurança (Safety Data Sheets, SDSs) apropriadas. Elas estão disponíveis online em formato PDF no site [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a SDS para cada kit QIAGEN e componente do kit.

## Armazenamento e manuseio de reagentes

As colunas QIAamp MinElute devem ser conservadas entre 2–8 °C após a entrega e podem ser usadas até a data de validade indicada na caixa do kit.

Todos os tampões podem ser conservados à temperatura ambiente (15–25 °C) e são estáveis até a data de validade do kit, se não forem abertos.

### Estabilidade em uso

O Buffer AW1 e o Buffer AW2 reconstituídos podem ser conservados em temperatura ambiente (15–25 °C) por até um ano ou até a data de validade do kit, o que for mais curto.

# Armazenamento e manuseio de espécimes

O QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit foi desenvolvido para uso com espécimes de FFPE.

A estabilidade do DNA depende de vários fatores como a coleta de espécimes, o manuseio, a preparação e as condições de armazenamento que podem influenciar o seu uso em aplicação a jusante. É importante consultar as instruções de uso da aplicação a jusante específica e/ou verificar e validar todo o fluxo de trabalho a fim de definir condições adequadas.

Para obter informações gerais sobre procedimentos laboratoriais para condições de coleta, manuseio, preparação e armazenamento de espécimes de FFPE, consulte a norma ISO 20166-3:2018 "Exames de diagnóstico in vitro moleculares – Especificações para os processos de exame prévio para tecidos fixados em formalina e conservados em parafina (FFPE) – Parte 3: DNA isolado" e CLSI MM13-A "Coleta, transporte preparação e armazenamento de espécimes para métodos moleculares; Diretriz aprovada".

O DNA é eluído em Buffer ATE e fica imediatamente pronto a ser usado em reações de amplificação ou armazenado (as condições dependem dos requisitos do usuário). Consulte os manuais dos kits relevantes para saber as condições de armazenamento recomendadas para aplicações específicas QIAGEN a jusante.

# Procedimento

## Pontos importantes antes de começar

- Todos os reagentes fornecidos no QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit destinam-se a ser unicamente utilizados com os outros reagentes do mesmo QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit. As substituições dos reagentes no kit não devem ser feitas se o desempenho ideal tiver que ser mantido.
- Após o recebimento do kit, verifique se há algum dano nos componentes do kit. Se as embalagens ou os recipientes de tampões estiverem danificados, entre em contato com a Assistência Técnica da QIAGEN ou com o distribuidor local. Em caso de derramamento de líquidos, consulte "Avisos e precauções" na página 10. Não use componentes de kits danificados, uma vez que o seu uso pode prejudicar o desempenho do kit.
- Não use componentes de outros kits com o kit que estiver usando no momento, a menos que os números de lote sejam idênticos.
- Evite a contaminação microbiana dos reagentes do kit.
- Esse kit sempre deve ser usado por uma equipe treinada em práticas laboratoriais de diagnóstico in vitro.
- Sempre use luvas de látex ou vinil durante o manuseio de reagentes e amostras para evitar contaminações com origem na superfície da pele ou em poeira do equipamento de laboratório. Partículas das mãos e de pó podem carregar bactérias e mofo e são fontes comuns de contaminação. Troque as luvas com frequência e mantenha os tubos fechados.
- Tampões não usados, fluxos de passagem e restos de amostras devem ser descartados de acordo com os procedimentos locais.
- Se você estiver usando seus próprios utensílios de plástico, é recomendável usar tubos cônicos descartáveis de 1,5 a 2 ml em polipropileno com tampas de segurança, nível reduzido de ligação e sem DNase/RNase ao longo do processo de purificação.
- Realize todas as etapas de centrifugação à temperatura ambiente (15–25 °C).
- Todos os tampões devem ser conservados à temperatura ambiente (15–25 °C) e bem misturados antes de serem usados.

- Coloque um termomisturador ou um incubador orbital aquecido a 56 °C para utilizar na etapa 9. Se não houver um termomisturador ou um incubador orbital aquecido disponível, também é possível usar um bloco de aquecimento ou banho-maria.
- Se o Buffer AL ou o Buffer ATL contiver precipitados, dissolva aquecendo até 70 °C e agitando levemente.
- Certifique-se de que o Buffer AW1 e o Buffer AW2 tenham sido preparados de acordo com as instruções abaixo.
- Os procedimentos de controle de qualidade na QIAGEN utilizam testes funcionais de aprovação de kits para todos os lotes individuais de kits. Portanto, não misture reagentes de lotes de kits diferentes e não combine reagentes individuais de diferentes lotes de reagentes.

## Preparação de tampões

### Preparar o Buffer ATL

- Antes de iniciar o procedimento, verifique se há formação de precipitado no Buffer ATL. Se necessário, dissolva aquecendo até 70 °C e agitando levemente.

### Preparar o Buffer AL

- Antes de iniciar o procedimento, verifique se há formação de precipitado no Buffer AL. Se necessário, dissolva aquecendo até 70 °C e agitando levemente.

## Preparar o Buffer AW1

- Adicione 25 ml de etanol (96–100%)\* ao recipiente que contém 19 ml de Buffer AW1 concentrado. Marque a caixa de seleção no rótulo do recipiente para indicar que foi adicionado etanol. O Buffer AW1 reconstituído pode ser conservado à temperatura ambiente (15–25 °C) até durante um ano ou até ao fim da data de validade do kit, o que for mais curto. Recomendamos anotar a data de reconstituição no rótulo do tampão.

Nota: Antes de iniciar o procedimento, misture por agitação o Buffer AW1 reconstituído.

## Preparar o Buffer AW2

- Adicione 30 ml de etanol (96–100%)\* ao recipiente que contém 13 ml de Buffer AW2 concentrado. Marque a caixa de seleção no rótulo do recipiente para indicar que foi adicionado etanol. O Buffer AW2 reconstituído pode ser conservado à temperatura ambiente (15–25 °C) até durante um ano ou até ao fim da data de validade do kit, o que for mais curto. Recomendamos anotar a data de reconstituição no rótulo do tampão.

Nota: Antes de iniciar o procedimento, misture por agitação o Buffer AW2 reconstituído.

## Material inicial

A matéria-prima da purificação do DNA são seções cortadas de tecido FFPE (idealmente, recém-cortadas). É possível combinar várias seções em uma preparação. Caso não tenha informações sobre a natureza do seu material inicial, recomendamos começar com não mais do que três seções por preparação.

O usuário deve otimizar o número de seções, a espessura das seções e a área de superfície das seções em função dos procedimentos utilizados em seu laboratório. Se o kit estiver sendo usado em conjunto com uma aplicação QIAGEN a jusante, consulte o manual relevante para obter instruções.

\* Não use álcool desnaturado, que contém outras substâncias, como metanol ou metiletilcetona.

## Procedimento de manuseio para evitar contaminação cruzada

Dada a sensibilidade das tecnologias de amplificação de ácidos nucleicos, é necessário tomar as seguintes precauções ao manusear colunas QIAamp MinElute para evitar a contaminação cruzada entre amostras:

- Não encher os tubos com tecido em demasia.
- Mudar de bisturi entre amostras ao raspar o tecido.
- Aplicar cuidadosamente a amostra ou solução à coluna QIAamp MinElute. Pipete a amostra na coluna QIAamp MinElute sem molhar a borda da coluna.
- Troque sempre as ponteiros das pipetas entre as transferências de líquidos. Recomendase o uso de ponteiros de pipeta com barreira contra aerossóis.
- Usar sempre novos tubos de lavagem nas etapas de lavagem de amostras.
- Garantir que as tampas dos tubos estão completamente fechadas antes de centrifugar ou agitar em vórtex.
- Garantir que a coluna QIAamp MinElute está completamente fechada antes da centrifugação.
- Após todas as etapas de agitação em vórtex pulsador e das etapas de incubação a 90 °C, centrifugar brevemente os tubos da microcentrífuga para remover gotas da parte interior das tampas.
- Abra somente uma coluna QIAamp MinElute de cada vez e tome cuidado para evitar a geração de aerossóis.
- Trocar sempre de bisturi entre amostras.
- Troque sempre as ponteiros das pipetas entre as transferências de líquidos. Para minimizar a contaminação cruzada, recomendamos usar ponteiros de pipetas com barreira contra aerossóis e evitar o uso de pipetas multietapas.
- Usar sempre luvas descartáveis e verificar regularmente se elas estão contaminadas com o material da amostra. Descartar as luvas em caso de suspeita de contaminação.
- Abra somente um tubo de cada vez.

## Centrifugação

As colunas QIAamp MinElute encaixam na maioria dos tubos da microcentrífuga de 1,5 a 2 ml padrão. A centrifugação das colunas QIAamp MinElute é realizada a aproximadamente 6000 x g para reduzir o ruído da centrífuga. Centrifugar a toda velocidade não melhorará o rendimento do DNA. No entanto, a centrifugação das colunas QIAamp MinElute a toda velocidade é necessária em duas etapas do procedimento: a etapa de centrifugação a seco após a lavagem das membranas e a etapa de eluição. A centrifugação a toda velocidade também é necessária para fazer descer a amostra após o tratamento com xileno e a etapa de lavagem com etanol.

Todas as etapas de centrifugação devem ser realizadas à temperatura ambiente (15–25 °C). Temperaturas de centrifugação baixas podem reduzir a qualidade da extração.

### Processar colunas QIAamp MinElute em uma microcentrífuga

- Feche sempre as colunas QIAamp MinElute antes de colocá-las na microcentrífuga.
- Evite o contato da membrana da coluna QIAamp MinElute com a ponteira da pipeta.
- É possível que frações de fluxo de passagem conttenham resíduos nocivos, pelo que devem ser descartadas adequadamente.
- Para um processamento paralelo eficiente de várias amostras, recomendamos preencher um rack com tubos de lavagem para os quais as colunas QIAamp MinElute possam ser transferidas após a centrifugação. Os tubos de lavagem usados contendo fluxo de passagem podem ser descartados, enquanto os novos tubos de lavagem contendo colunas QIAamp MinElute podem ser colocados diretamente na microcentrífuga.
- Garanta que é mantida uma rastreabilidade total das amostras durante todo o processo.

## Eluir DNA purificado

Para aplicações a jusante que exijam pequenos volumes iniciais (por exemplo, alguns ensaios PCR), um eluato mais concentrado pode aumentar a sensibilidade do ensaio, mas também pode resultar em uma concentração aumentada de potenciais inibidores.

Aumentar o volume de eluição irá diminuir a concentração de DNA no eluato.

O volume de eluato recuperado pode ser aproximadamente 5 µl menos do que o volume de Buffer ATE aplicado na coluna QIAamp MinElute. Por exemplo, um volume de eluição de 20 µl resulta em  $\geq 15$  µl de eluato. O volume de eluato recuperado depende da natureza da amostra.

É responsabilidade do usuário otimizar o volume de eluição para os procedimentos utilizados no seu laboratório. Consulte os manuais dos kits para saber os volumes de eluição recomendados necessários para aplicações específicas QIAGEN a jusante.

Os rendimentos podem ser aumentados se a coluna for incubada com Buffer ATE à temperatura ambiente, por exemplo, por 5 minutos antes da centrifugação. O DNA eluído pode ser coletado nos tubos de eluição de 1,5 ml (fornecidos). As condições de armazenamento do DNA eluído dependem dos requisitos definidos pelo usuário. Consulte os manuais dos kits para saber as condições de armazenamento recomendadas para aplicações específicas QIAGEN a jusante.

# Protocolo: Isolamento de DNA genômico de seções de tecido FFPE

## Procedimento

1. Usando um bisturi, corte o excesso de parafina do bloco de amostra.
2. Corte as seções seguindo a prática laboratorial padrão (consulte "Material inicial" na página 17). O usuário deve otimizar o número de seções, a espessura das seções e a área de superfície das seções em função dos procedimentos utilizados em seu laboratório. Garanta que a rastreabilidade das amostras é mantida durante todo o processo.
3. Utilizando um bisturi esterilizado, raspe imediatamente o tecido das seções para um Tubo de lise (fornecido). Certifique-se de colocar todo o tecido disponível no tubo. Adicione 1 ml de xileno à amostra, feche a tampa e agite vigorosamente em vórtex até que a parafina se dissolva (por ex., 10 s). Certifique-se de que o tubo esteja completamente fechado para evitar o derramamento de xileno, a contaminação cruzada de amostras e um possível contato com o xileno.

Nota: Utilize o xileno em capelas de exaustão ou outro equipamento de contenção adequado.

4. Centrifugue a toda velocidade durante aproximadamente 2 minutos em temperatura ambiente para coletar o pellet de tecido. Caso não tenha sido formado um pellet de tecido, repita esta etapa.

Nota: Temperaturas de centrifugação baixas podem reduzir a qualidade da extração.

5. Remova e descarte o sobrenadante por meio de pipetagem. Conserve o pellet.  
O sobrenadante contém xileno, o qual é um resíduo nocivo e deve ser descartado adequadamente de acordo com os regulamentos locais.
6. Adicione 1 ml de etanol (96–100%) ao pellet de tecido e misture bem agitando em vórtex.  
O etanol extrai o xileno residual da amostra e deve ser descartado adequadamente.

7. Centrifugue na velocidade máxima durante 2 minutos, em temperatura ambiente.

Remova cuidadosamente o sobrenadante fazendo a pipetagem. Não remova qualquer porção do pellet.

Remova cuidadosamente o etanol residual usando uma ponteira de pipeta fina. Abra o tubo e incube a 15–40 °C até que todo o etanol residual tenha evaporado. A remoção do etanol residual é crucial para o sucesso da extração.

Nota: Uma temperatura de incubação mais baixa aumenta o tempo de evaporação, enquanto uma temperatura mais alta pode secar o pellet em demasia, dificultando a sua suspensão.

8. Ressuspenda o pellet em 180 µl de Buffer ATL. Adicione 20 µl de Proteinase K e misture agitando em vórtex.

Nota: O pellet deve ser bem ressuspenso no tampão ATL para garantir a máxima recuperação do rendimento.

9. Incube a 56 °C por aproximadamente 1 hora (até que a amostra tenha sido completamente lisada).

10. Incube a 90 °C por 1 hora.

A incubação a 90 °C em Buffer ATL reverte parcialmente a modificação do formaldeído de ácidos nucleicos. Tempos de incubação mais curtos ou temperaturas de incubação mais baixas podem afetar a qualidade e a quantidade do DNA. Se utilizar apenas um bloco de aquecimento, deixe a amostra em temperatura ambiente após a incubação a 56 °C até o bloco de aquecimento atingir 90 °C.

11. Centrifugue brevemente o tubo para remover gotas da parte interior da tampa.

12. Adicione 200 µl de Buffer AL à amostra e misture bem agitando em vórtex. Em seguida, adicione 200 µl de etanol (96–100%) e remisture bem agitando em vórtex.

Para obter uma solução homogênea, é essencial que a amostra, o Buffer AL e o etanol sejam misturados imediata e completamente por agitação em vórtex ou pipetagem. O Buffer AL e o etanol podem ser pré-misturados e adicionados em conjunto em uma etapa, para economizar tempo ao processar várias amostras. Pode ocorrer formação de um precipitado branco ao adicionar Buffer AL e etanol. Este precipitado não interfere com o procedimento QIAamp. Utilize sempre uma mistura fresca e descarte imediatamente após a utilização.

13. Centrifugue brevemente o tubo para remover gotas da parte interior da tampa.
14. Transfira cuidadosamente todo o lisado para a coluna QIAamp MinElute (em um tubo de lavagem de 2 ml) sem molhar a borda, feche a tampa e centrifugue a 6000 x g por  $\geq 1$  minuto. Coloque a coluna QIAamp MinElute em um tubo de lavagem limpo de 2 ml (fornecido) e descarte o tubo de lavagem contendo o fluxo de passagem.

Se o lisado não tiver passado completamente pela membrana após a centrifugação, centrifugue novamente a uma velocidade maior até esvaziar a coluna QIAamp MinElute.

15. Abra cuidadosamente a coluna QIAamp MinElute e adicione 500  $\mu$ l de Buffer AW1 reconstituído sem molhar a borda. Feche a tampa e centrifugue a 6000 x g por  $\geq 1$  minuto. Coloque a coluna QIAamp MinElute em um tubo de lavagem limpo de 2 ml e descarte o tubo de lavagem contendo o fluxo de passagem.
16. Abra cuidadosamente a coluna QIAamp MinElute e adicione 500  $\mu$ l de Buffer AW2 reconstituído sem molhar a borda. Feche a tampa e centrifugue a 6000 x g durante  $\geq 1$  min. Coloque a coluna QIAamp MinElute em um tubo de lavagem limpo de 2 ml e descarte o tubo de lavagem contendo o fluxo de passagem.

O contato entre a coluna QIAamp MinElute e o fluxo de passagem deve ser evitado. Certifique-se de equilibrar o rotor da centrífuga. Os rotores de algumas centrífugas podem vibrar na desaceleração, fazendo com que o fluxo de passagem, que contém etanol, entre em contato com a coluna QIAamp MinElute. Tome cuidado ao remover a coluna QIAamp MinElute e o tubo de lavagem do rotor para que o fluxo de passagem não entre em contato com a coluna QIAamp MinElute.

17. Centrifugue a toda velocidade (aproximadamente 20.000 x g) por cerca de 3 minutos para secar a membrana.

O carryover de etanol para o eluato pode interferir com algumas aplicações a jusante.

18. Coloque a coluna QIAamp MinElute em um tubo de eluição limpo de 1,5 ml (fornecido) e descarte o tubo de lavagem contendo o fluxo de passagem. Abra cuidadosamente a tampa da coluna QIAamp MinElute e aplique 20 a 200 µl de Buffer ATE no centro da membrana.

**Importante:** Se estiver usando pequenos volumes de eluição (<50 µl), dispense Buffer ATE no centro da membrana para garantir a completa eluição do DNA ligado. As colunas QIAamp MinElute permitem optar por diferentes volumes de eluição. Escolha um volume ajustado aos requisitos da aplicação a jusante. O volume de eluato será aproximadamente 5 µl menos do que o volume de solução de eluição aplicado na coluna.

19. Feche a tampa e incube em temperatura ambiente (15–25 °C) durante pelo menos 1 minuto. Centrifugue em velocidade máxima (aproximadamente 20.000 x g) por ≥1 minuto.

Incubar a coluna QIAamp MinElute carregada com Buffer ATE durante aproximadamente 5 minutos em temperatura ambiente antes da centrifugação pode aumentar o rendimento do DNA.

## Controle de qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão de Qualidade da QIAGEN certificado pela ISO, cada lote de QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit é testado relativamente a especificações predeterminadas para garantir uma qualidade consistente do produto.

## Limitações

O desempenho do kit foi estabelecido usando tecidos FFPE para isolamento de DNA genômico.

Fixação insuficiente ou excessiva pode impactar a qualidade do DNA, causando baixo desempenho em ensaios posteriores.

A formalina residual pode inibir a etapa de digestão de proteinase K e assegurar uma desidratação completa de amostras antes da conservação.

O usuário é responsável por validar o desempenho do sistema em quaisquer procedimentos utilizados em seu laboratório que não estejam abrangidos pelos estudos de desempenho da QIAGEN.

Para minimizar o risco de um impacto negativo nos resultados do diagnóstico, devem ser usados os controles adequados para aplicações a jusante. Para validação adicional, recomendamos as diretrizes da Conferência Internacional sobre Harmonização (CIH) de Requisitos Técnicos no documento ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (Validação de Procedimentos Analíticos: Texto e Metodologia).

Quaisquer resultados de diagnóstico gerados devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos ou laboratoriais.

Usando o QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit, é possível copurificar RNA com o DNA se estiver presente na amostra.

## Características de desempenho

As características de desempenho aplicáveis estão disponíveis na guia de recursos da página de produto em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Guia de solução de problemas

Este guia de solução de problemas pode ser útil para resolver qualquer problema que possa surgir. Para obter mais informações, consulte também a página de perguntas frequentes (Frequently Asked Questions, FAQ) no nosso Centro de Suporte Técnico: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Os cientistas da Assistência Técnica da QIAGEN estão sempre prontos para responder quaisquer perguntas que você possa ter sobre as informações e/ou os protocolos neste manual ou sobre as tecnologias de amostragem e ensaio (para obter informações de contato, acesse [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Comentários e sugestões

### Colunas QIAamp MinElute entupidas

- |   |  |
|---|--|
| a) Demasiado material inicial               | Reduza a quantidade de material inicial. É fundamental usar a quantidade correta de material inicial (consulte a página 17).   |
| b) Temperatura de centrifugação muito baixa | A temperatura de centrifugação deve ser de entre 15–25 °C. Algumas centrifugas podem resfriar abaixo de 15 °C, mesmo quando definidas para 20 °C. Isso pode causar a formação de precipitados que levam à obstrução das colunas QIAamp MinElute. Se isso acontecer, defina a temperatura de centrifugação para 15–25 °C. |

### Baixo rendimento de DNA

- |   |  |
|---|--|
| a) Demasiado material inicial   | Sobrecarregar a coluna de centrifugação QIAamp MinElute reduz significativamente os rendimentos de ácidos nucleicos. Reduza a quantidade de material inicial (consulte a página 17).   |
| b) O DNA permanece ligado à membrana da coluna de centrifugação RNeasy MinElute | Repita a eluição de DNA, mas incube a coluna de centrifugação QIAamp MinElute na bancada por 10 minutos com o tampão ATE (tampão de eluição) antes da centrifugação.   |
| c) Armazenamento incorreto de tampões/reagentes                                 | As QIAamp MinElute spin columns têm de ser armazenadas entre 2 a 8 °C após a entrega do kit. Verifique se a temperatura de armazenamento está correta, uma vez que a exposição a temperaturas mais altas por longos períodos de tempo pode causar a perda de rendimento. |

### Valor $A_{260}/A_{280}$ baixo

- |  |   |
|--|---|
| Água usada na diluição de ácidos nucleicos para a medição de $A_{260}/A_{280}$ | Em vez de água, use 10 mM de Tris Cl com pH de 7,5 para diluir a amostra antes de medir a pureza. |
|--|---|

O DNA não tem bom desempenho em ensaios/aplicações posteriores

Carryover de etanol

A centrifugação das colunas QIAamp MinElute a toda velocidade é necessária em duas etapas do procedimento: Durante a segunda lavagem com Buffer AW2, certifique-se de que centrifuga a  $\geq 8000 \times g$  por 2 minutos a 15–25 °C para secar a membrana da coluna de centrifugação QIAamp MinElute. Após a centrifugação, remova cuidadosamente a coluna do tubo de coleta para que a coluna não entre em contato com o fluxo de passagem. Em seguida, coloque a coluna em um novo tubo de coleta e centrifugue em velocidade máxima por 5 minutos. A centrifugação a toda velocidade também é necessária para fazer descer a amostra após o tratamento com xileno e a etapa de lavagem com etanol.

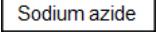
# Símbolos

Os seguintes símbolos são exibidos nas instruções de uso ou na embalagem e no rótulo:

Símbolo	Definição do símbolo
	Contém reagentes suficientes para <N> reações
	Data de validade
	Este produto atende aos requisitos do Regulamento Europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de referência
	Número de lote
	Número do material (isto é, etiquetagem do componente)
	Componentes
	Contém
	Número

## Símbolo

## Definição do símbolo

	Número Global de Item Comercial (Global Trade Item Number)
Rn	R representa a revisão das Instruções de uso e n representa o número de revisão
	Limites de temperatura
	Fabricante
	Consultar as instruções de uso
	Conservar ao abrigo da luz solar
	Aviso/cuidado
	Proteinase K
	Azida de sódio
	Na chegada

## Símbolo

## Definição do símbolo



Anotar a data atual depois de adicionar etanol ao frasco

**EtOH**

Etanol

**ADD**

Adição

**GuHCl**

Cloridrato de guanidina

**MALEIC ACID**

Ácido maleico

**UDI**

Identificador único do dispositivo

# Anexo: Manipulação

## Manuseio geral

Sempre use luvas de látex ou vinil durante o manuseio de reagentes e amostras para evitar contaminações com origem na superfície da pele ou em poeira do equipamento de laboratório. Partículas das mãos e de pó podem carregar bactérias e mofo e são fontes comuns de contaminação. Troque as luvas com frequência e mantenha os tubos fechados. Evite a contaminação microbiana dos reagentes do kit.

## Utensílios de plástico descartáveis

O uso de tubos de polipropileno estéreis e descartáveis é recomendado durante o procedimento.

## Informações sobre pedidos

Produto	Conteúdo	Nº de ref.
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit — para purificação de DNA genômico de tecidos incluídos em parafina		
QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit (50)	Para 50 preparos de DNA: 50 colunas QIAamp MinElute, Proteinase K, Tampões, Tubos de lavagem (2 ml), Tubos de eluição (1,5 ml), Tubos de lise (2 ml)	60404

Para obter informações de licenciamento atualizadas e isenções de responsabilidade específicas do produto, consulte as Instruções de uso do kit QIAGEN correspondente. As Instruções de uso do kit QIAGEN estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitados à assistência técnica da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

# Histórico de revisões do documento

<b>Revisão</b>	<b>Descrição</b>
R1, junho de 2022	<ul style="list-style-type: none"><li>● Atualização para a versão 2 do kit para conformidade com o IVDR</li><li>● Atualização da seção Descrição e princípio</li><li>● Atualização da seção Materiais necessários, mas não fornecidos</li><li>● Atualização da seção Avisos e precauções</li><li>● Atualização da seção Armazenamento e manuseio de reagentes</li><li>● Atualização da seção Guia de solução de problemas</li><li>● Atualização do Anexo</li></ul>
R2, fevereiro de 2023	<ul style="list-style-type: none"><li>● Atualização da seção Armazenamento e manuseio de espécimes</li></ul>

### Contrato de licença limitada para o QIAamp DSP DNA Kit

O uso deste produto implica a aceitação, por parte de qualquer comprador ou usuário do produto, dos seguintes termos:

1. O produto deverá ser usado unicamente em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e com o presente manual e recorrendo ao uso exclusivo dos componentes contidos no painel. Nos termos dos direitos de propriedade intelectual, a QIAGEN não concede nenhuma licença para usar ou incorporar os componentes deste painel com quaisquer componentes não incluídos nele, 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 desses protocolos adicionais foram fornecidos pelos usuários da QIAGEN para os usuários da QIAGEN. Esses protocolos não foram testados por completo nem otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não garante nem fornece garantias de que eles não infrinjam os direitos de terceiros.
2. Com exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este painel e/ou o seu uso não infrinjam os direitos de terceiros.
3. Este painel e seus componentes estão licenciados para uso único e não podem ser reutilizados, reconstruídos ou revendidos.
4. A QIAGEN renuncia especificamente a quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, com exceção das expressamente indicadas.
5. O comprador e o usuário do painel concordam em não realizar nem permitir que outra pessoa realize qualquer etapa que possa levar a ou facilitar qualquer um dos atos proibidos acima. A QIAGEN poderá fazer cumprir as proibições deste Contrato de Licença Limitada em qualquer Tribunal e recuperará todos os seus custos de investigação e de Tribunal, incluindo honorários de advogados, em qualquer ação destinada a fazer cumprir este Contrato de Licença Limitada ou qualquer um de seus direitos de propriedade intelectual relativos ao painel e/ou seus componentes.

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

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

Fev-2023 HB-3033-002 1130780PTBR © 2023 QIAGEN, todos os direitos reservados.

