

Instrucciones de uso (manual de uso) del QIAamp[®] DSP Virus Kit



Versión 2

IVD

Para uso diagnóstico in vitro

Para su uso con QIAamp[®] DSP Virus Kit

CE

REF

60704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANIA

R1 **MAT**

1127541ES

Contenido

Uso previsto	4
Usuario previsto	4
Descripción y principio.....	5
Lisis con QIAGEN Protease (QP)	5
Adsorción sobre la membrana QIAamp MinElute.....	5
Eliminación de los contaminantes residuales.....	6
Elución de ácidos nucleicos víricos	6
Rendimiento y calidad de los ácidos nucleicos víricos.....	7
Adición de controles internos.....	8
Resumen y explicación.....	10
Materiales suministrados	11
Contenido del kit.....	11
Componentes del kit	12
Materiales necesarios pero no suministrados	13
Reactivos adicionales.....	13
Consumibles	13
Equipo	13
Advertencias y precauciones.....	14
Información de seguridad.....	14
Información para emergencias.....	15
Precauciones	16
Eliminación.....	17

Almacenamiento y manipulación de reactivos	18
Estabilidad en uso	18
Recogida, conservación y manipulación de muestras	20
Notas importantes	22
Cuestiones importantes antes de comenzar	22
Manipulación de las columnas QIAamp MinElute	23
Preparación de reactivos y tampones.....	23
Montaje del sistema de vacío QIAvac 24 Plus	28
Protocolo: aislamiento y purificación de ácidos nucleicos víricos de suero y plasma	30
Control de calidad.....	34
Limitaciones	35
Características del rendimiento	36
Guía para la resolución de problemas	37
Símbolos	42
Apéndice.....	45
Información para pedidos	46
Historial de revisiones del documento	47

Uso previsto

El QIAamp® DSP Virus Kit está previsto para el aislamiento y la purificación manuales de ácidos nucleicos víricos de muestras de plasma y suero humanos.

El QIAamp DSP Virus Kit utiliza una tecnología de membrana de sílice (tecnología QIAamp) para aislar y purificar ácidos nucleicos víricos de muestras de plasma o suero humanos.

Este producto está destinado al uso diagnóstico in vitro por parte de usuarios profesionales, como técnicos y médicos que hayan recibido formación en técnicas de biología molecular.

Usuario previsto

El producto está destinado a usuarios profesionales tales como técnicos y médicos con formación en técnicas de biología molecular.

Descripción y principio

El procedimiento QIAamp DSP Virus consta de 4 pasos (lisis, unión, lavado y elución) y se lleva a cabo con las columnas QIAamp MinElute® junto con un colector de vacío y una microcentrifugadora estándar. El procedimiento ha sido diseñado para minimizar la posible contaminación cruzada entre muestras y permite la manipulación segura de muestras potencialmente infecciosas. El sencillo procedimiento QIAamp DSP Virus es el procesamiento simultáneo de varias muestras. El QIAamp DSP Virus Kit puede utilizarse para aislar ARN y ADN víricos de una amplia variedad de virus de ARN y ADN. No obstante, las características de rendimiento para cada especie de virus no se han especificado y deben ser validadas por el usuario.

Lisis con QIAGEN Protease (QP)

Las muestras se lisan en condiciones desnaturizantes a altas temperaturas. La lisis se realiza en presencia de QIAGEN Protease (QP) y de tampón de lisis (AL), que garantizan conjuntamente la inactivación de las ribonucleasas.

Adsorción sobre la membrana QIAamp MinElute

Para optimizar la unión del ADN y ARN víricos a la membrana, se añade etanol a los lisados. Los lisados se transfieren a continuación a una columna QIAamp MinElute y, a medida que la atraviesan por efecto de la presión de vacío, los ácidos nucleicos víricos se adsorben sobre la membrana de gel de sílice. Las sales y el pH garantizan que las proteínas y otros contaminantes que pueden inhibir la PCR y otras reacciones enzimáticas anterógradas no se retengan en la membrana QIAamp MinElute.

Eliminación de los contaminantes residuales

Mientras que los ácidos nucleicos se mantienen unidos a la membrana, los contaminantes se eliminan eficazmente en tres pasos de lavado.

Elución de ácidos nucleicos víricos

En un paso único, el ARN y ADN víricos de alta pureza se eluyen en la membrana de la columna QIAamp MinElute en tampón de elución (AVE), equilibrado a temperatura ambiente. Las columnas QIAamp MinElute permiten utilizar volúmenes de elución de 20 µl o 60 µl. En las aplicaciones anterógradas que requieran volúmenes iniciales reducidos (p. ej. determinados ensayos de PCR y RT-PCR), el uso de ácidos nucleicos víricos eluidos en 20 µl de tampón de elución (AVE) puede aumentar la sensibilidad del ensayo.

Para las aplicaciones anterógradas que requieran un volumen inicial mayor, el volumen de elución se puede aumentar hasta 60 µl. No obstante, un aumento del volumen de elución reducirá la concentración de ácidos nucleicos en el eluido.

Debido al tampón de elución restante retenido por la membrana de la columna de centrifugación tras dicho proceso, el volumen de eluido recuperado puede ser inferior al volumen del tampón de elución que se aplica a la columna. Además, el volumen del eluido recuperado depende de la naturaleza de la muestra.

Los ácidos nucleicos víricos eluidos se recogen en tubos de elución (ET) y se pueden conservar a una temperatura de 2 a 8 °C durante hasta 24 horas. Para la conservación a largo plazo durante un período superior a 24 horas, recomendamos conservar los ácidos nucleicos purificados a una temperatura de -20 °C.

Nota: La estabilidad del eluido depende en gran medida de varios factores y está relacionada con la aplicación anterógrada específica. Se ha evaluado para el QIAamp DSP Virus Kit junto con aplicaciones anterógradas ejemplares. Es responsabilidad del usuario consultar las

instrucciones de uso de la aplicación anterógrada específica que se usa en el laboratorio o validar todo el flujo de trabajo para establecer las condiciones de conservación adecuadas.

Rendimiento y calidad de los ácidos nucleicos víricos

Los valores obtenidos a partir de ácido nucleico vírico aislado de muestras biológicas son normalmente inferiores a 1 µg. Para la determinación de los valores se recomiendan métodos de amplificación cuantitativos. Si cuantifica ácidos nucleicos aislados mediante el protocolo QIAamp DSP Virus, recuerde que en la muestra habrá una cantidad considerablemente mayor de ARN transportador que de ARN vírico.

El ARN transportador tiene dos funciones: En primer lugar, potencia la unión de los ácidos nucleicos víricos a la membrana QIAamp, especialmente si en la muestra hay pocas moléculas diana. En segundo lugar, la adición de grandes cantidades de ARN transportador reduce las posibilidades de degradación del ARN vírico en el caso poco frecuente de que las moléculas de ARNasa no se desnaturalicen por efecto de las sales caótropas y del detergente del tampón de lisis (AL). Si no se añade ARN transportador al tampón de lisis (AL), la recuperación del ARN o ADN vírico puede ser menor.

El ARN transportador también puede incluirse en algunos reactivos de control interno de ensayos anterógrados comerciales. En estos casos, consulte las correspondientes instrucciones de uso del fabricante del ensayo anterógrado.

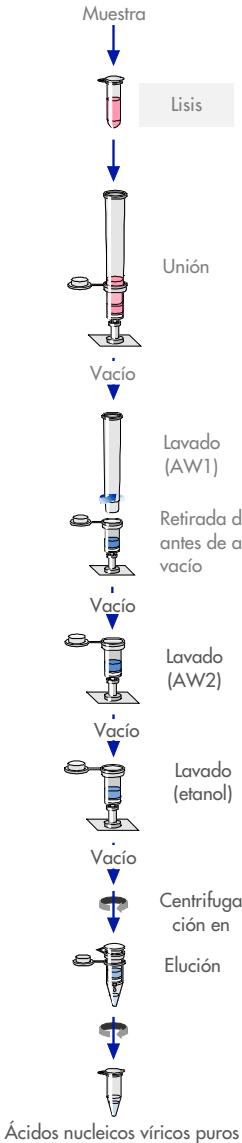
La eficacia de los diferentes sistemas de amplificación varía en función de la cantidad total de ácidos nucleicos presente en la reacción. Los eluidos de este kit contienen ácidos nucleicos víricos y ARN transportador y las cantidades de ARN transportador superarán ampliamente las cantidades de ácidos nucleicos víricos. Por consiguiente, la cantidad de eluido que se debe añadir a las amplificaciones anterógradas debe calcularse en función de la cantidad de ARN transportador añadido. Para obtener los niveles máximos de sensibilidad en las reacciones de amplificación, puede ser necesario ajustar la cantidad de ARN transportador añadido al tampón de lisis (AL).

Adición de controles internos

Si el protocolo QIAamp DSP Virus se combina con un sistema de amplificación disponible en el mercado, puede ser necesario introducir un control interno en el proceso de purificación. El ARN o ADN de control interno se debe añadir junto con el ARN transportador al tampón de lisis. Para optimizar la eficacia de purificación, las moléculas de control interno deben tener una longitud superior a 200 nucleótidos, ya que las moléculas más pequeñas no se recuperan eficazmente.

Consulte las instrucciones del fabricante para determinar la concentración óptima. Si no se utiliza la concentración recomendada, la eficacia de amplificación puede ser menor.

Procedimiento QIAamp DSP Virus



Lea atentamente el protocolo (página 30) antes de comenzar.
 Añada a un LT 75 µl de QP, 500 µl de muestra y 500 µl de AL.
 Mezcle con la agitadora vorticial durante 15 segundos.
 Incube durante 15 minutos a 56 °C.
 Añada 600 µl de etanol.
 Mezcle con la agitadora vorticial durante 15 segundos.
 Incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C).

Transfiera el lisado a la columna QIAamp MinElute con el EXT acoplado.

Añada 600 µl de AW1 reconstituido.

Retire el EXT.

Añada 750 µl de AW2 reconstituido.

Añada 750 µl de etanol.

Ponga la columna QIAamp MinElute en un WT.
 Centrifugue durante 1 minuto a 14 000 rpm.
 Ponga la columna QIAamp MinElute en un WT.
 Incube durante 3 minutos a 56 °C.
 Ponga la columna QIAamp MinElute en un ET.
 Añada 20 µl o 60 µl de AVE.
 Incube durante 3 minutos a temperatura ambiente.
 Centrifugue durante 1 minuto a 14 000 rpm.

Resumen y explicación

El QIAamp DSP Virus Kit utiliza una tecnología de eficacia comprobada para el aislamiento y la purificación simultáneamente de ADN y ARN víricos. El procedimiento QIAamp DSP Virus combina las propiedades de unión selectiva de una membrana de gel de sílice con volúmenes de elución mínimos de 20 µl o 60 µl.


El procedimiento es adecuado para plasma o suero; cualquiera de ellos puede contener citrato o ácido etilendiaminotetraacético (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA). Las muestras pueden ser frescas, liofilizadas o congeladas, siempre y cuando no hayan sido congeladas y descongeladas más de una vez.

Para el procedimiento de vacío, para este protocolo se requieren un colector de vacío (p. ej., el QIAvac 24 Plus con el QIAvac Connecting System) y una bomba de vacío capaz de producir un vacío de ~800-900 mbar (p. ej., QIAGEN® Vacuum Pump). Se debe utilizar un Vacuum Regulator (parte del QIAvac Connecting System) para supervisar fácilmente la presión de vacío y la liberación conveniente de vacío.

El procedimiento puede utilizarse para aislar ARN y ADN víricos de una amplia variedad de virus de ARN y ADN. El procedimiento ha sido diseñado para evitar la contaminación cruzada entre muestras y permitir la manipulación segura de muestras potencialmente infecciosas. El procedimiento está especialmente pensado para el procesamiento simultáneo de varias muestras. Los ácidos nucleicos víricos se eluyen en tampón de elución (AVE), listos para usarse en reacciones de amplificación o almacenarse a -20 °C para un uso posterior.

Materiales suministrados

Contenido del kit

QIAamp DSP Virus				60704	
N.º de catálogo				50	
Número de preparaciones				50	
QIAamp MinElute®	QIAamp MinElute columns with Wash Tube (WT) (Columnas QIAamp MinElute con tubo de lavado [WT]) (2 ml)	COL		50	
EXT	Column Extenders (Extensores de columna) (3 ml)	COL	EXT	50	
ET	Elution Tubes (Tubos de elución) (1,5 ml)	ELU	TUBE	50	
VC	VacConnectors (Conectores VacConnector)	VAC	CON	50	
LT	Lysis Tubes (Tubos de lisis) (2 ml)	LYS	TUBE	50	
WT	Wash Tubes (WT) (Tubos de lavado [WT]) (2 ml)	WASH	TUBE	50	
AL	Lysis Buffer* (Tampón de lisis)	LYS	BUF	33 ml	
AW1	Wash Buffer 1 (Tampón de lavado 1) (AW1)* (concentrado)	WASH	BUF	1 CON	19 ml
AW2	Wash Buffer 2 (Tampón de lavado 2) (AW2)† (concentrado)	WASH	BUF	2 CON	13 ml
AVE	Elution Buffer† (purple caps)(Tampón de elución) (tapones púrpura)	ELU	BUF	4 x 2 ml	
PS	Protease Solvent† (Disolvente de proteasa)	QPROT	SOLV	4,4 ml	
Carrier (Transportador)	Carrier RNA (ARN transportador) (tapones rojos)	CAR	RNA	310	
QP	QIAGEN® Protease (Proteasa QIAGEN®)‡	QPROT		1 vial	
–	Instrucciones de uso (manual de uso)			1	

* Contiene clorhidrato de guanidina. No es compatible con desinfectantes que contengan lejía. Consulte la página 14 si desea obtener información de seguridad.

† Contiene azida sódica como conservante

‡ Volumen de resuspensión 4,4 ml

Componentes del kit

Los componentes principales del kit que contienen principios activos se explican a continuación.

Reactivo	Principios activos	Concentración (p/p) [%]
QIAGEN Protease (QP)	Subtilisina	de ≥ 90 a ≤ 100
AL	Clorhidrato de guanidina Ácido maleico	de ≥ 30 a < 50 de $\geq 0,1$ a < 1
AWI	Clorhidrato de guanidina	de ≥ 50 a < 70

Materiales necesarios pero no suministrados

Reactivos adicionales

- Etanol (96-100 %) *

Consumibles

- Pipetas† y puntas de pipeta (para prevenir la contaminación cruzada, es muy recomendable usar puntas de pipeta con filtro contra aerosoles)
- Guantes desechables

Equipo

- Bloque calefactor† para la lisis de muestras a 56 °C para tubos de ensayo micro de 2,0 ml
- Microcentrifugadora†
- Probeta graduada (50 ml)
- Agitador vorticial
- Sistema de vacío QIAvac 24 Plus (n.º de cat. 19413) o equivalente†

* No utilice alcohol desnaturalizado, que contenga otras sustancias como metanol o metiletilcetona.

† Antes de usar el producto, asegúrese de que los instrumentos se hayan verificado y calibrado siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Advertencias y precauciones

Tenga en cuenta que puede ser necesario que tenga que consultar las normativas locales para conocer los requisitos de notificación, en relación con los sucesos graves que hayan ocurrido en relación con el dispositivo; al fabricante y/o su representante autorizado y a la autoridad sanitaria del país en el que resida el usuario y/o el paciente.

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Lea atentamente todas las instrucciones antes de utilizar el kit.

Información de seguridad

Siempre que trabaje con productos químicos utilice una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Si desea obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en www.qiagen.com/safety, desde donde también podrá buscar, ver e imprimir las SDS de todos los kits y componentes de los kits de QIAGEN.



PRECAUCIÓN: No añada lejía ni soluciones ácidas a los residuos de la preparación de muestras.

- El tampón de lisis (AL) y el tampón de lavado 1 (AW1) contienen clorhidrato de guanidina, que puede formar compuestos muy reactivos cuando se combina con lejía. Si se derrama líquido de estos tampones, límpielo con un detergente de laboratorio adecuado y agua. Si el líquido derramado contiene microorganismos potencialmente infecciosos, limpie primero la zona afectada con agua y detergente de laboratorio y, a continuación, con hipoclorito sódico al 1 % (v/v).
- Si los frascos de tampones sufren algún daño o pierden líquido, use guantes y gafas de protección al desecharlos para evitar lesiones personales o lesiones a terceros.
- QIAGEN no ha analizado los residuos líquidos generados por el procedimiento QIAamp DSP Virus para determinar si contienen material residual infeccioso. Por lo tanto, deben tomarse precauciones universales (guantes, batas de laboratorio y gafas) a la hora de manipular materiales potencialmente infecciosos de origen humano cuando se trabaje con este producto, y los residuos líquidos deben considerarse infecciosos y manipularse y desecharse según las normas de seguridad locales.
- Los materiales de muestra y las muestras son potencialmente infecciosos. Deseche los residuos de muestras y ensayos conforme a los procedimientos de seguridad local.

Información para emergencias

CHEMTREC

EE. UU. y Canadá 1-800-424-9300

Fuera de EE.UU. y Canadá +1 703-527-3887

Precauciones

Las siguientes frases relativas a los riesgos y a las medidas de precaución se aplican a los componentes del QIAamp DSP Virus Kit.

Lysis Buffer (AL)



Contiene clorhidrato de guanidina; ácido maleico. ¡Advertencia! Puede ser nocivo en caso de ingestión o inhalación. Provoca irritación cutánea. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Provoca irritación ocular grave. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara. Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico en caso de malestar. En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado.

Wash Buffer 1 (AW1)



Contiene: clorhidrato de guanidina. ¡Advertencia! Nocivo en caso de ingestión o inhalación. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado.

QIAGEN Protease (QP)



Contiene: subtilisina. ¡Peligro! Nocivo en caso de ingestión. Provoca irritación cutánea. Provoca lesiones oculares graves. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. Puede irritar las vías respiratorias. Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara. Llevar equipo de protección respiratoria. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. EN CASO DE exposición manifiesta o presunta: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. Transporte a la persona al exterior y manténgala en reposo en una posición cómoda para respirar.

Eliminación

Los residuos contienen muestras y reactivos. Estos residuos pueden contener material tóxico o infeccioso y deben eliminarse adecuadamente. Consulte en la normativa local en materia de seguridad los procedimientos de eliminación adecuados.

Si desea obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Dichas fichas están disponibles en línea en un formato PDF en www.qiagen.com/safety, donde podrá encontrar, ver e imprimir la ficha de datos de seguridad de cada kit de QIAGEN y de cada componente del kit.

Almacenamiento y manipulación de reactivos

Debe prestar especial atención a las fechas de caducidad y condiciones de almacenamiento impresas en las cajas y etiquetas de todos los componentes. No utilice componentes caducados o mal almacenados.

Las columnas QIAamp MinElute deben almacenarse a una temperatura de 2–8°C en el momento de su recepción. Cuando se conserva en las condiciones correctas, las columnas QIAamp MinElute hasta la fecha de caducidad que figura en su caja.

Nota: Para asegurarse de que los componentes del kit de diferentes kits no se mezclen, etiquete las columnas QIAamp MinElute con el respectivo número de lote del kit.

Todos los tampones se pueden conservar a temperatura ambiente (15-25 °C) hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit.

El ARN transportador liofilizado se puede guardar a temperatura ambiente hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit.

La QIAGEN Protease (QP) liofilizada se puede conservar a temperatura ambiente hasta la fecha de caducidad sin que su rendimiento se vea afectado.

Estabilidad en uso

El ARN transportador solo puede disolverse en tampón de elución (AVE) y, una vez disuelto, debe añadirse inmediatamente al tampón de lisis (AL) tal y como se describe en la página 24. Esta solución debe prepararse nueva y a 2-8 °C es estable hasta 48 horas. Las porciones no utilizadas de ARN transportador disuelto en el tampón de elución (AVE) deben congelarse a –20 °C en partes alícuotas.

Una vez reconstituida en el disolvente de proteasa (PS), la QIAGEN Protease (QP) permanece estable hasta un año si se conserva a 2-8 °C, pero solo hasta la fecha de caducidad. Evite conservar la solución madre de QIAGEN Protease (QP) a temperatura ambiente durante largos períodos de tiempo.

El tampón de lavado 1 (AW1) reconstituido y el tampón de lavado 2 (AW2) reconstituido permanecen estables hasta 1 año si se conservan a temperatura ambiente, pero solo hasta la fecha de caducidad indicada en la caja del kit.

Recogida, conservación y manipulación de muestras

Nota: La estabilidad de las muestras depende en gran medida de varios factores y está relacionada con la aplicación anterógrada específica. Se ha evaluado junto con aplicaciones anterógradas ejemplares. Es responsabilidad del usuario consultar las instrucciones de uso de la aplicación anterógrada específica que se usa en el laboratorio o validar todo el flujo de trabajo para establecer las condiciones de conservación adecuadas.

Para conocer las recomendaciones de recogida, transporte y conservación, consulte la directriz MM13-A del CLSI "Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods" (Recogida, transporte, preparación y conservación de muestras para métodos moleculares). Por otra parte, se deben seguir las instrucciones de uso del dispositivo de recogida de muestras seleccionado durante la preparación, la conservación, el transporte y la manipulación general de las muestras.


El procedimiento de purificación está optimizado para su uso con muestras de plasma y suero humanos. Para la obtención de plasma, se pueden utilizar muestras de sangre con EDTA o citrato como anticoagulante. Las muestras pueden ser frescas o congeladas, siempre y cuando no se hayan congelado y descongelado más de una vez. Descongele las muestras congeladas agitando suavemente para asegurarse de que se mezclen completamente.

Una vez obtenido y centrifugado, el plasma o suero puede conservarse a 2–8°C hasta seis horas. Para el almacenamiento prolongado, se recomienda congelarlo en alícuotas a una temperatura de –80 °C a –20 °C. Las muestras de plasma o suero congeladas no deben descongelarse más de una vez. La congelación y descongelación repetidas desnaturaliza y precipita las proteínas, lo que provoca una disminución de la concentración vírica y, por consiguiente, de la cantidad de ácidos nucleicos víricos. Además, los crioprecipitados que se forman durante la congelación y descongelación obstruyen la membrana de la columna QIAamp MinElute. Si aparecen crioprecipitados, conviene eliminarlos mediante una centrifugación a aproximadamente 6800 x g durante tres minutos. El sobrenadante clarificado debe aspirarse y procesarse inmediatamente sin romper el sedimento. Inicie inmediatamente el procedimiento de purificación. El centrifugado a fuerzas g bajas no reduce los títulos víricos.

Nota: De acuerdo con estudios de interferencia ejemplares para el QIAamp DSP Virus Kit y en consonancia con la norma ISO 20186-2:2019(E), la heparina de los tubos de recogida de sangre puede afectar a la pureza de los ácidos nucleicos aislados y el posible arrastre a los eluidos puede provocar inhibiciones en algunas aplicaciones anterógradas. Por lo tanto, recomendamos el uso de muestras de sangre tratadas con EDTA o citrato como anticoagulante.

Notas importantes

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Tras recibir el kit, compruebe que los componentes no hayan sufrido ningún daño. Si los blísteres o los frascos de tampones están dañados, póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN o con su distribuidor local. Si se derrama algún líquido, consulte el apartado “Advertencias y precauciones” (página 14). No utilice los componentes dañados de un kit, ya que su rendimiento podría verse afectado.
- Utilice siempre un equipo sin ribonucleasa.
- Cambie siempre las puntas de pipeta entre transferencias de líquidos. Para evitar la contaminación cruzada, recomendamos usar puntas de pipeta con filtro para aerosoles.
- Use siempre guantes desechables y compruebe periódicamente que no se hayan contaminado con el material de las muestras.
- Deseche los guantes si se contaminan y, como mínimo, en todos los pasos marcados con el símbolo de los guantes. 
- Para minimizar la contaminación cruzada, no abra más de un tubo a la vez.
- Tras haber realizado todos los pasos de agitación vorticial de pulsos, centrifugue brevemente los tubos para microcentrifugadora con el fin de eliminar las gotas del interior del tapón.
- Todos los pasos de centrifugación se realizan a temperatura ambiente (15-25 °C).
- El usuario debe asegurar de que se mantenga la trazabilidad de las muestras durante todo el procedimiento.
- No utilice componentes de kits distintos del que está utilizando, a menos que tengan el mismo número de lote.
- Procure evitar la contaminación microbiana de los reactivos del kit.
- Para reducir al mínimo el riesgo de infección con material potencialmente infeccioso, se recomienda trabajar bajo un flujo de aire laminar hasta que las muestras estén lisadas.

- El procedimiento proporciona instrucciones para procesar una sola muestra de plasma o suero. No obstante, con el sistema de vacío QIAvac 24 Plus se pueden procesar hasta 24 muestras simultáneamente.
- Este kit solo debe utilizarlo personal cualificado para los métodos de laboratorio de diagnóstico in vitro.

Manipulación de las columnas QIAamp MinElute

Dada la sensibilidad de las tecnologías de amplificación de los ácidos nucleicos, cuando se manipulen las columnas QIAamp MinElute deben adoptarse las siguientes medidas de precaución con el fin de evitar una posible contaminación cruzada entre las preparaciones de muestras:

- Aplique la muestra o la solución con cuidado a la columna QIAamp MinElute. Transfiera la muestra a la columna QIAamp MinElute procurando no humedecer el borde de la columna.
- Cambie siempre las puntas de pipeta entre todas las transferencias de líquidos. Se recomienda utilizar puntas de pipeta con filtro para aerosoles.
- Evite tocar la membrana QIAamp MinElute con la punta de pipeta.
- Abra cada vez solo una columna QIAamp MinElute y evite generar aerosoles.

Preparación de reactivos y tampones

Preparación del ARN

Cuando prepare ARN vírico, realice los pasos manuales del procedimiento con rapidez y lea el apartado Apéndice de la página 45 antes de comenzar.

Preparación de la QIAGEN Protease (QP)

Añada todo el contenido del vial de 4,4 ml de disolvente de proteasa (PS) al vial de QIAGEN Protease (QP) liofilizada y mézclelo bien. Para evitar la formación de espuma, mezcle invirtiendo el vial varias veces. Compruebe que la QIAGEN Protease (QP) se haya disuelto por completo.



No añada la QIAGEN Protease (QP) directamente al tampón de lisis (AL)*.

Adición de ARN transportador y control interno al tampón de lisis (AL)*

Es recomendable emplear de un control interno al usar el QIAamp DSP Virus Kit en combinación con sistemas de amplificación diagnóstica. Consulte las instrucciones de los fabricantes para obtener más información. El control interno y el ARN transportador reconstituido deben añadirse al tampón de lisis (AL) y mezclarse cuidadosamente invirtiendo el tubo 10 veces. Para evitar la formación de espuma, no realice una agitación vorticial. Si se usa el control interno, reduzca el volumen del tampón de lisis (AL) en consonancia (consulte la Tabla 1 para obtener más detalles).

Consulte las instrucciones del fabricante para determinar la concentración óptima de control interno. Si no se utiliza la concentración recomendada, pueden generarse resultados incorrectos. Al calcular la cantidad correcta de control interno que se debe utilizar, es preciso tener en cuenta el volumen inicial de la muestra y el volumen de solución de elución. Recuerde que el QIAamp DSP Virus Kit utiliza un volumen de muestra inicial de 500 μl .

Para preparar la solución de ARN transportador, añada 310 μl de tampón de elución (AVE) al tubo con 310 μg de ARN transportador liofilizado para obtener una solución de 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$.

* Contiene sales caótopas. Adopte las medidas de seguridad de laboratorio adecuadas y lleve guantes durante la manipulación. No es compatible con desinfectantes que contengan lejía. Consulte la página 14 si desea obtener información de seguridad.

Disuelva bien el ARN transportador, repártalo en partes alícuotas adecuadas y guárdelas a una temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. No congele y descongele las partes alícuotas del ARN transportador más de tres veces.



El ARN transportador no se disuelve en tampón de lisis (AL). Solo puede disolverse primero en tampón de elución (AVE) y, una vez disuelto, debe añadirse al tampón de lisis (AL). Asegúrese de que el ARN transportador se disuelva completamente en el volumen correcto de tampón de elución (AVE) antes de mezclarlo con el tampón de lisis (AL).

Calcule el volumen necesario de mezcla de tampón de lisis (AL) y ARN transportador por lote de muestras seleccionando en la Tabla 1 el número de muestras que se van a procesar simultáneamente. Los volúmenes se calculan mediante el siguiente cálculo simple:

$$n \times 0,55 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 11,2 \text{ }\mu\text{l/ml} = z \text{ }\mu\text{l}$$

donde: **n** = número de muestras que se van a procesar simultáneamente

y = volumen calculado de tampón de lisis (AL)

z = volumen de ARN transportador/tampón de elución (AVE) que se debe añadir al tampón de lisis (AL)

Mezcle cuidadosamente invirtiendo el tubo diez veces. Para evitar la formación de espuma, no realice una agitación vorticial.

Tabla 1. Volúmenes de tampón de lisis (AL) y de mezcla de ARN transportador–tampón de elución (AVE) necesarios para el procedimiento QIAamp DSP Virus*

N.º de muestras	Vol. AL* (ml)	Vol. ARN transportador/AVE (µl)	N.º de muestras	Vol. AL* (ml)	Vol. ARN transportador/AVE (µl)
1	0,55	6,2	13	7,15	80,0
2	1,10	12,3	14	7,70	86,0
3	1,65	18,5	15	8,25	92,4
4	2,20	24,6	16	8,80	98,6
5	2,75	30,8	17	9,35	104,7
6	3,30	37,0	18	9,90	110,9
7	3,85	43,1	19	10,45	117,0
8	4,40	49,3	20	11,00	123,2
9	4,95	55,0	21	11,55	129,4
10	5,50	61,6	22	12,10	135,5
11	6,05	67,8	23	12,65	141,7
12	6,60	73,9	24	13,20	147,8



El procedimiento de preparación de la muestra está optimizado para 5,6 µg de ARN transportador por muestra. Si ha comprobado que para su sistema de amplificación es preferible una menor cantidad de ARN transportador, transfiera solo la cantidad necesaria de ARN transportador disuelto a los tubos que contienen el tampón de lisis (AL). Añada por cada microgramo de ARN transportador necesario por preparación 5 µl de ARN transportador disuelto en Buffer AVE por mililitro de tampón de lisis (AL). El uso de menos de 5,6 µg de ARN transportador por muestra debe validarse para cada tipo de muestra y de ensayo anterógrado concreto.

* Si se usa control interno, reduzca el volumen del tampón de lisis (AL) en consonancia.

Preparación del tampón de lavado 1 (AW1)*

Mediante una probeta graduada, añada 25 ml de etanol (96-100 %) al frasco que contiene 19 ml de concentrado de tampón de lavado 1 (AW1). Marque la casilla de verificación de la etiqueta para indicar que se ha añadido etanol. Conserve el tampón de lavado 1 (AW1) reconstituido a temperatura ambiente (15-25 °C).



Mezcle siempre el tampón de lavado 1 (AW1) reconstituido invirtiendo el frasco varias veces antes de comenzar el procedimiento.

Preparación del tampón de lavado 2 (AW2)†

Mediante una probeta graduada, añada 30 ml de etanol (96-100 %) al frasco que contiene 13 ml de concentrado de tampón de lavado 2 (AW2). Marque la casilla de verificación de la etiqueta para indicar que se ha añadido etanol. Conserve el tampón de lavado 2 (AW2) reconstituido a temperatura ambiente (15-25 °C).



Mezcle siempre el tampón de lavado 2 (AW2) reconstituido invirtiendo el frasco varias veces antes de comenzar el procedimiento.

Preparación del tampón de elución (AVE)

El kit incluye cuatro tubos de tampón de elución (AVE). Tenga cuidado de no contaminar el tampón con ribonucleasas. Si va a realizar como máximo cuatro procedimientos de purificación mediante un mismo kit, recomendamos desechar el tubo de tampón de elución (AVE) al término de cada procedimiento.

* Contiene sales caótropas. Adopte las medidas de seguridad de laboratorio adecuadas y lleve guantes durante la manipulación. No es compatible con desinfectantes que contengan lejía. Consulte la página 14 si desea obtener información de seguridad.

† Contiene azida sódica como conservante.

Montaje del sistema de vacío QIAvac 24 Plus

Compruebe que ha montado correctamente el extensor de columna (EXT), la columna QIAamp MinElute, el conector VacConnector (VC) y la válvula VacValve (consulte la Figura 1).

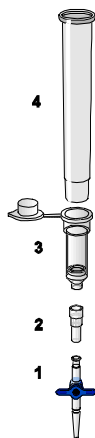


Figura 1. Ensamblado de los componentes del QIAamp DSP Virus Kit para el procesamiento al vacío de las muestras:

- | | |
|--|------------------------------|
| 1. Válvula VacValve (suministrada con el sistema de vacío) | 3. Columna QIAamp MinElute |
| 2. Conector VacConnector (VC) | 4. Extensor de columna (EXT) |

Recomendamos el etiquetado de los tubos de lisis (LT), los tubos de elución (ET) y las columnas QIAamp MinElute para usar con el sistema de vacío QIAvac 24 Plus conforme al esquema de la Figura 2 para no confundir las muestras. Esta figura se puede fotocopiar y etiquetar con los nombres de las muestras.

Fecha: _____

Usuario: _____

ID del ciclo: _____

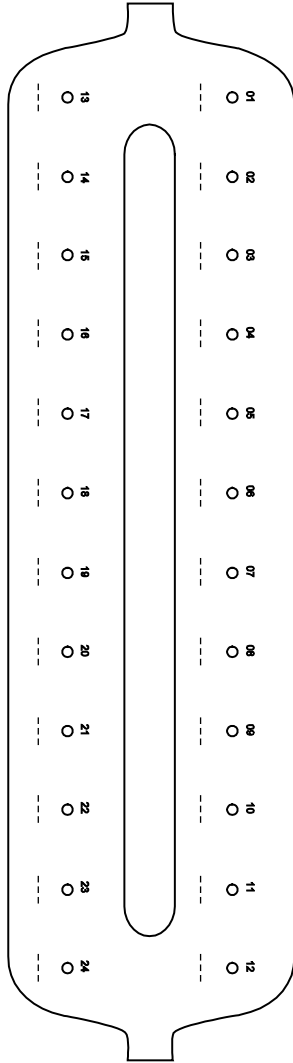


Figura 2. Esquema de etiquetado de los tubos de lisis (LT), los tubos de elución (ET) y las columnas QIAamp MinElute para usar con el sistema de vacío QIAvac 24 Plus.

Protocolo: aislamiento y purificación de ácidos nucleicos víricos de suero y plasma

Para el aislamiento y la purificación de ácidos nucleicos víricos de 500 µl de suero y plasma tratados con citrato o EDTA.

Antes de comenzar

- Equilibre las muestras de sangre a temperatura ambiente (15-25 °C) y compruebe que están bien mezcladas.
- Asegúrese de que todos los reactivos y las columnas QIAamp MinElute (en envases alveolados cerrados) alcancen la temperatura ambiente.
- Ajuste el bloque calefactor a 56 °C para su uso en los pasos 4 y 17.
- Asegúrese de que el tampón de lavado 1 (AW1), el tampón de lavado 2 (AW2) y la QIAGEN Protease (QP) se hayan preparado según las instrucciones de la sección "Cuestiones importantes antes de comenzar" de la página 22.
- Si se ha formado algún precipitado en el tampón de lisis (AL), disuélvalo incubándolo a una temperatura de 56 °C.
- Añada ARN transportador reconstituido en tampón de elución (AVE) o control interno al tampón de lisis (AL) según las instrucciones de la página 24.
- Si es posible, utilice tampón de elución (AVE) fresco para cada procedimiento (se suministran cuatro tubos).
- Para minimizar la contaminación cruzada, inserte un VacConnector (VC) en cada adaptador Luer del sistema de vacío.
- Los procedimientos de control de calidad de QIAGEN emplean pruebas funcionales de liberación de kit para cada lote de kit individual. Por lo tanto, no mezcle reactivos de lotes distintos de kit y no combine reactivos individuales de diferentes lotes de reactivos.
- Asegúrese de que no haya nada en el frasco de residuos del sistema de vacío y que todas las conexiones se hayan realizado correctamente.

- Para obtener información detallada sobre el funcionamiento del sistema de vacío, especialmente acerca de su mantenimiento, consulte el manual de uso suministrado con el equipo.

Procedimiento

1. Pipetee 75 µl de QIAGEN Protease (QP) en un tubo de lisis (LT).



Compruebe la fecha de caducidad de la proteasa reconstituida antes de utilizarla.

2. Añada 500 µl de plasma o suero al tubo de lisis (LT).
3. Añada 500 µl de tampón de lisis (AL) (que contiene 11,2 µg/ml de ARN transportador) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mézclelo en agitadora vorticial de pulsos durante ≥ 15 segundos.

Para que la lisis sea eficaz, es esencial que la muestra y el tampón de lisis (AL) se mezclen perfectamente hasta obtener una solución homogénea.



El tampón de lisis (AL) contiene control interno. Dada la alta viscosidad del tampón de lisis (AL), asegúrese de añadir el volumen correcto de tampón de lisis (AL) pipeteando con cuidado.



No añada la QIAGEN Protease (QP) directamente al tampón de lisis (AL).

4. Incubar a 56 °C durante 15 minutos.
5. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 segundos a la máxima velocidad para eliminar las gotas del interior de la tapa.



6. Cámbiese de guantes y abra con cuidado el tubo de lisis (LT).
7. Añada 600 µl de etanol (96-100 %) al tubo de lisis (LT), cierre la tapa y mézclelo bien mediante agitación vorticial de pulsos durante ≥ 15 segundos. Incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C).

8. Centrifugue el tubo de lisis (LT) durante ≥ 5 segundos a la máxima velocidad para eliminar las gotas del interior de la tapa.
9. Inserte la columna QIAamp MinElute en el VacConnector (VC) del sistema de vacío (consulte la Figura 1, página 28). Inserte un extensor de columna (EXT) en la columna QIAamp MinElute abierta.



Mantenga el tubo de lavado (WT) para la centrifugación en seco en el paso 16.



10. Cámbiese de guantes y no abra más de un tubo a la vez.

11. Dispense cuidadosamente todo el lisado obtenido en el paso 7 en el extensor de columna (EXT) de la columna QIAamp MinElute procurando no mojar el borde.

12. Encienda la bomba de vacío. Una vez que el lisado haya pasado a través de la columna QIAamp MinElute, abra la válvula del sistema de vacío y libere la presión negativa.

Si se procesan varias columnas QIAamp MinElute a la vez, se recomienda cerrar la válvula VacValve de cada columna después de que el lisado haya pasado a través de ellas para reducir la duración de este paso de vacío.



Si el lisado no ha atravesado completamente la membrana pasados 15 minutos, deseche la columna QIAamp MinElute y repita el procedimiento con una nueva muestra.



La válvula del sistema de vacío permite liberar rápidamente la presión de vacío.

13. Dispense 600 μ l de tampón de lavado 1 (AW1) en la columna QIAamp MinElute. Retire y deseche con cuidado el extensor de columna (EXT) y cierre la válvula del sistema de vacío. Una vez que el tampón de lavado 1 (AW1) haya pasado a través de la columna QIAamp MinElute, abra la válvula y libere la presión negativa.



Para evitar la contaminación cruzada, asegúrese de que los extensores de columna (EXT) retirados no pasen sobre las columnas QIAamp MinElute vecinas.

14. Dispense 750 µl de tampón de lavado 2 (AW2) en la columna QIAamp MinElute procurando no mojar el borde. Deje abierta la tapa de la columna y cierre la válvula del sistema de vacío. Una vez que el tampón de lavado 2 (AW2) haya pasado a través de la columna QIAamp MinElute, abra la válvula y libere la presión negativa.
15. Dispense 750 µl de etanol (96-100 %) en la columna QIAamp MinElute procurando no mojar el borde. Deje abierta la tapa de la columna y cierre la válvula del sistema de vacío. Una vez que el etanol haya pasado a través de la columna QIAamp MinElute, abra la válvula y libere la presión negativa.



Utilice puntas de pipeta con filtro para aerosoles para dispensar el etanol en la columna QIAamp MinElute.

16. Cierre la tapa de la columna QIAamp MinElute, retírela del sistema de vacío y deseche el conector VacConnector (VC). Ponga la columna QIAamp MinElute en el tubo de lavado (WT) apartado en el paso 9 y centrifúguela a velocidad máxima (aproximadamente 20 000 x g o 14 000 rpm) durante 1 minuto para secar completamente la membrana. Elimine el tubo de lavado (WT) que contiene el filtrado.



La omisión de la centrifugación en seco puede producir una inhibición del ensayo anterógrado.

17. Introduzca la columna QIAamp MinElute en un nuevo tubo de lavado (WT) e incube con la tapa abierta 56 °C durante 3 minutos para evaporar completamente el líquido restante.
18. Ponga la columna QIAamp MinElute en un tubo de elución (ET) limpio y deseche el tubo de lavado (WT). Abra con cuidado la tapa de la columna QIAamp MinElute y dispense 20 µl o 60 µl de tampón de elución (AVE) (dependiendo del ensayo anterógrado) en el centro de la membrana.



Es importante usar un nuevo tubo de elución para evitar la contaminación con los tampones de lavado que podrían provocar la inhibición del ensayo anterógrado.



Es sumamente importante dispensar el tampón de elución en el centro de la membrana para volúmenes de elución más pequeños a fin de garantizar la óptima recuperación de los ácidos nucleicos y el tampón de elución.



El volumen de elución se puede adaptar según las necesidades de la aplicación anterógrada. Recuerde que el volumen de elución recuperado puede ser menor que el volumen de tampón de elución que se dispensa en la columna debido al tampón de elución restante que la membrana de la columna de centrifugación retiene tras la centrifugación.



Asegúrese de que el tampón de elución esté equilibrado a temperatura ambiente.

19. Cierre la tapa e incube a temperatura ambiente (15-25 °C) durante ≥ 3 minutos. Centrifugue a máxima velocidad (aproximadamente 20 000 $\times g$ o 14 000 rpm) durante 1 minuto para eluir los ácidos nucleicos víricos.



Coloque las tapas de los tubos de elución de modo que estén orientadas hacia la dirección opuesta a la rotación del rotor (p. ej., si el rotor gira en sentido horario, oriente las tapas en sentido antihorario).



Tras realizar este protocolo, siga el procedimiento de mantenimiento del sistema de vacío (para obtener más detalles, consulte el manual de uso suministrado con el sistema de vacío).

Control de calidad

Conforme al sistema de gestión total de la calidad certificado de QIAGEN, cada lote del QIAamp DSP Virus Kit se comprueba frente a una serie de especificaciones predeterminadas con el fin de garantizar la calidad homogénea del producto.

Limitaciones

Se ha establecido el rendimiento del sistema en estudios de evaluación de rendimiento en los que se purifican los ácidos nucleicos de muestras de plasma y suero humanos.

Es responsabilidad del usuario verificar el rendimiento del sistema para cualquier procedimiento utilizado en su laboratorio que no esté cubierto por los estudios de evaluación del rendimiento de QIAGEN.

Para minimizar el riesgo de que se produzcan efectos negativos sobre los resultados diagnósticos, deben utilizarse controles apropiados para las aplicaciones anterógradas. Todo resultado diagnóstico que se genere debe interpretarse en combinación con otros datos clínicos o de laboratorio.

Características del rendimiento

Encontrará las características de rendimiento correspondientes en la pestaña resources (recursos) de la página de productos en www.qiagen.com.

Guía para la resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas puede ayudarle a resolver cualquier problema que pueda surgir. Para obtener más información, también puede consultar la página de preguntas frecuentes (Frequently Asked Questions) de nuestro Centro de servicio técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Los científicos del servicio técnico de QIAGEN se encargarán de responder cualquier pregunta que tenga sobre la información y/o los protocolos de este manual de uso, así como sobre las tecnologías para la preparación de muestras y ensayos de biología molecular (encontrará la información de contacto en www.qiagen.com).

Comentarios y sugerencias

Manipulación general

- a) Atasco de las puntas de pipeta durante la transferencia de la muestra
- Las muestras congeladas no se mezclaron correctamente después de la descongelación. Descongele las muestras congeladas agitando suavemente para asegurarse de que se mezclen completamente.
- Los crioprecipitados que se forman durante la congelación y descongelación obstruyen la membrana de QIAamp MinElute. En caso de que aparezcan crioprecipitados, elimine la muestra mediante centrifugación durante 5 minutos a 16 000 x g.
- b) Columna QIAamp MinElute obstruida
- Si se reduce la velocidad de flujo, se puede prolongar el tiempo de vacío.
- De forma alternativa, cierre el VacValve, si se utiliza, y retire con cuidado el conjunto del extensor de columna-VacConnector-VacValve de la columna QIAamp MinElute sin perder el lisado del extensor de columna.
- Retire la columna QIAamp MinElute del colector de vacío, colóquela en un tubo de lavado (WT) de 2 ml y centrifúguela a máxima velocidad hasta que la muestra haya atravesado por completo la membrana. Vuelva a colocar el conjunto extensor de columna-VacConnector-VacValve que contiene el lisado restante. Conecte la bomba de vacío, abra la VacValve y continúe con la carga del lisado restante.
- Repita el procedimiento anterior si la columna QIAamp MinElute continúa obstruida.

Comentarios y sugerencias

Los crioprecipitados que se forman durante la congelación y descongelación obstruyen la membrana de la columna QIAamp MinElute. En caso de que aparezcan crioprecipitados, elimine la muestra mediante centrifugación durante 5 minutos a 16 000 x g.

El uso de etanol enfriado con hielo durante la lisis puede ayudar a reducir el riesgo de obstrucción de la membrana. Por otra parte, es fundamental añadir los tampones de lisis en el orden correcto descrito anteriormente. No añada la QIAGEN Protease (QP) directamente al tampón de lisis (AL).

- c) Se ha formado precipitado en el tampón de lisis
- Disuelva incubándolo el tampón de lisis (AL) a 56 °C.
- d) Volúmenes de elución variables
- El volumen del eluido recuperado depende de la naturaleza de la muestra. Debido al tampón de elución restante retenido por la membrana de la columna de centrifugación tras dicho proceso, el volumen de eluido recuperado puede ser inferior al volumen del tampón de elución que se aplica a la columna.
- Aplique el tampón de elución en el centro de la membrana. Es sumamente importante dispensar el tampón de elución en el centro de la membrana para volúmenes de elución más pequeños a fin de garantizar la óptima recuperación de los ácidos nucleicos y el tampón de elución.
- e) No se alcanzó una presión de vacío de ~800 a ~900 mbar
- El conector de vacío no está herméticamente cerrado. Presione la tapa del colector de vacío después de activarlo. Compruebe si se alcanzó la presión de vacío. La junta de la tapa de QIAvac está gastada. Examine el sello del colector y sustitúyalo si es necesario.
- Las VacValves están gastadas. Extraiga todas las VacValves e inserte VacConnectors directamente en las extensiones luer. Inserte las columnas QIAamp MinElute en los VacConnectors, cierre la tapa de las columnas y conecte el vacío. Compruebe si se alcanzó la presión de vacío. Sustituya las VacValves si es necesario.

Comentarios y sugerencias

La conexión con la bomba de vacío presenta fugas. Cierre toda la extensión luer con tapones luer y conecte la bomba de vacío. Compruebe que la presión de vacío sea estable después de conectar la bomba (y que la válvula del Vacuum Regulator esté cerrada). Intercambie las conexiones entre la bomba y el colector de vacío si es necesario.

Si aún no se alcanza la presión de vacío, sustituya la bomba de vacío por una de mayor potencia.

El ADN no tiene un buen rendimiento en reacciones anterógradas

- a) Lisis incompleta de la muestra
- Si se sometió a QIAGEN Protease (QP) a temperatura elevada durante un período de tiempo prolongado, es posible que pierda actividad. Repita el procedimiento con muestras nuevas y QIAGEN Protease (QP) fresca.
- Asegúrese de disolver QIAGEN Protease (QP) con disolvente de proteasa de acuerdo con las instrucciones anteriores. Para evitar la formación de espuma, mezcle invirtiendo el vial varias veces. Compruebe que la QIAGEN Protease (QP) se haya disuelto por completo. No añada la QIAGEN Protease (QP) directamente al tampón de lisis (AL).
- Para que la lisis sea eficaz, es esencial que la muestra y el tampón de lisis (AL) se mezclen perfectamente hasta obtener una solución homogénea. Dada la alta viscosidad de tampón de lisis (AL), asegúrese de añadir el volumen correcto de tampón de lisis (AL) pipeteando con cuidado y utilizando una pipeta adecuada.
- b) Se usó un bajo porcentaje de etanol en lugar de 96-100 %
- Repita el procedimiento de purificación con nuevas muestras y etanol al 96-100 %. No utilice alcohol desnaturalizado, que contenga otras sustancias como metanol o metiletilcetona.
- c) tampón de lavado 1 (AW1) o tampón de lavado 2 (AW2) preparado incorrectamente
- Asegúrese de que los concentrados del tampón de lavado 1 (AW1) y el tampón de lavado 2 (AW2) se hayan diluido en el volumen correcto de 96-100 % de etanol y se hayan mezclado invirtiendo el frasco varias veces antes de comenzar el procedimiento.

Comentarios y sugerencias













- d) Las muestras de plasma y suero no se prepararon, conservaron o mezclaron correctamente
- El procedimiento de purificación está optimizado para su uso con muestras de plasma y suero humanos. Para la obtención de plasma, se pueden utilizar muestras de sangre con EDTA o citrato como anticoagulante. Una vez obtenido y centrifugado, el plasma o suero puede conservarse a 2–8°C hasta seis horas. Para el almacenamiento prolongado, se recomienda congelarlo en alícuotas a una temperatura de –80 °C a –20 °C.
- Las muestras de plasma o suero congeladas no deben descongelarse más de una vez. La congelación y descongelación repetidas desnaturaliza y precipita las proteínas, lo que provoca una disminución de la concentración vírica y, por consiguiente, de la cantidad de ácidos nucleicos víricos.
- Descongele las muestras congeladas agitando suavemente para asegurarse de que se mezclen completamente.
- e) Poco o ningún ADN en el eluido
- Reduzca el volumen de elución o aumente la cantidad de eluido que se añade a la reacción, si es posible.
- f) Se usó un volumen de elución inadecuado
- Determine el volumen máximo de eluido adecuado para su aplicación anterógrada. Reduzca o aumente el volumen de eluido añadido a la aplicación anterógrada en consonancia. El volumen de elución se puede adaptar proporcionalmente. La elución con volúmenes más pequeños de Buffer AVE conduce a concentraciones más altas de ácido nucleico.












Comentarios y sugerencias

- g) Arrastre de posible inhibidor
- Asegúrese de realizar el paso de centrifugación en seco antes de la elución para evitar la posible inhibición del ensayo anterógrado.
- Es importante usar un nuevo tubo de elución para evitar la contaminación con los tampones de lavado que podrían provocar la inhibición del ensayo anterógrado.
- De acuerdo con estudios de interferencia ejemplares para el QIAamp DSP Virus Kit y en consonancia con la norma ISO 20186-2:2019(E), la heparina de los tubos de recogida de sangre puede afectar a la pureza de los ácidos nucleicos aislados y el posible arrastre a los eluidos puede provocar inhibiciones en algunas aplicaciones anterógradas. Por lo tanto, recomendamos el uso de muestras de sangre tratadas con EDTA o citrato como anticoagulante.
- h) ARN transportador degradado/preparado incorrectamente
- El ARN transportador tiene dos funciones: En primer lugar, potencia la unión de los ácidos nucleicos víricos a la membrana QIAamp, especialmente si en la muestra hay pocas moléculas diana. En segundo lugar, la adición de grandes cantidades de ARN transportador reduce las posibilidades de degradación del ARN vírico en el caso poco frecuente de que las moléculas de ARNasa no se desnaturalicen por efecto de las sales caótropas y del detergente del tampón de lisis (AL).
- Si no se añade ARN transportador al tampón de lisis (AL), la recuperación del ARN o ADN vírico puede ser menor.
- El ARN transportador solo puede disolverse en Buffer AVE; una vez disuelto debe añadirse inmediatamente al tampón de lisis (AL).
- El ARN transportador también puede incluirse en algunos reactivos de control interno de ensayos anterógrados comerciales. En estos casos, consulte las correspondientes instrucciones de uso del fabricante del ensayo anterógrado.

Símbolos

En las instrucciones de uso o en el embalaje y en el etiquetado aparecen los siguientes símbolos:

Símbolo	Definición del símbolo
	Contiene suficientes reactivos para <N> reacciones
	Fecha de caducidad
	Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro.
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Número de catálogo
	Número de lote
	Número de material (p. ej., el etiquetado de los componentes)
	Componentes
	Volumen
	Contiene
	Número
	Número mundial de artículo comercial
Rn	“R” es la revisión de las Instrucciones de uso y “n” es el número de revisión

Símbolo	Definición del símbolo
	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Consultar las instrucciones de uso
	Mantener alejado de la luz solar
	Advertencia/precaución
	A su recepción
	Nota importante
	Cambiar los guantes después del paso del protocolo marcado con este símbolo
	Abrir a la entrega; guardar las columnas QIAamp MinElute a 2-8 °C
	Anotar la fecha actual tras añadir etanol al frasco
	Adición

Símbolo

Definición del símbolo

LYOPH

Liofilizado

RCNS

Reconstituir en

EtOH

Etanol

GuHCl

Clorhidrato de guanidina

MALEIC ACID

Ácido maleico

SUBT

Subtilisina



Conduce a

UDI

Identificador único de dispositivo

Apéndice

Manipulación del ARN

Las ribonucleasas (ARNasas) son enzimas muy estables y activas que, en general, no requieren cofactores para actuar. Dado que las ARNasas son difíciles de inactivar y que tan solo se necesitan minúsculas cantidades para que destruyan el ARN, no utilice ningún material de plástico ni de vidrio sin eliminar primero una posible contaminación con ARNasa. Deben tomarse precauciones para evitar introducir involuntariamente ARNasas en la muestra de ARN durante o después del procedimiento de aislamiento. Para crear y mantener un entorno libre de ARNasa, durante el tratamiento previo y el uso de los recipientes desechables y no desechables y de las soluciones deben adoptarse las siguientes medidas de precaución mientras se trabaja con el ARN.

Manipulación general

Cuando trabaje con ARN deberá utilizar siempre técnicas asépticas microbiológicas adecuadas. Las manos y el polvo pueden ser portadores de bacterias y hongos y constituyen las fuentes más comunes de contaminación con ARNasa. Al manipular los reactivos y las muestras de ARN, use siempre guantes de látex o de vinilo para prevenir la contaminación con ARNasa procedente de la superficie de la piel o de un equipo de laboratorio con polvo. Cámbiese los guantes con frecuencia y mantenga los tubos cerrados.

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de cat.
QIAamp DSP Virus Kit (50)	Para 50 preparaciones: Columnas QIAamp MinElute, tampones, reactivos, tubos, extensores de columna, VacConnectors	60704
Accesorios		
QIAvac 24 Plus vacuum manifold	Colector de vacío para el procesamiento de 1-24 columnas de centrifugación: QIAvac 24 Plus vacuum manifold, conexiones Luer, acoplamientos rápidos	19413
Vacuum Pump	Bomba de vacío universal	84020
VacConnectors	500 conectores desechables para usar con las columnas de centrifugación QIAamp en los conectores luer	19407
VacValves	24 válvulas para usar con el QIAvac 24 y el QIAvac 24 Plus	19408
Vacuum Regulator	Vacuum Regulator	19530
QIAvac Connecting System	Sistema para conectar el colector de vacío con la bomba de vacío: incluye bandeja, frascos de residuos, tubos, acoplamientos, válvula, calibre y 24 VacValves	19419

Para obtener información actualizada sobre licencias y sobre exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el documento de instrucciones de uso del kit de QIAGEN correspondiente. Las instrucciones de uso del kit de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico de QIAGEN o a su distribuidor local.

Historial de revisiones del documento

Revisión	Descripción
R1, junio de 2022	<p data-bbox="348 368 561 392">Versión 2, revisión 1</p> <ul data-bbox="348 416 1020 1125" style="list-style-type: none"><li data-bbox="348 416 1020 440">● Actualización al kit versión 2 para el cumplimiento con IVDR<li data-bbox="348 456 1020 480">● Actualización de las secciones Uso previsto y Limitaciones<li data-bbox="348 496 1020 520">● Actualización de Descripción y principio<li data-bbox="348 536 1020 639">● Actualización de Materiales suministrados (adición de principios activos) y Materiales necesarios pero no suministrados<li data-bbox="348 655 1020 719">● Actualización de Advertencias y precauciones (adición de la sección de información para emergencias y eliminación)<li data-bbox="348 735 1020 799">● Actualización de Almacenamiento y manipulación de reactivos<li data-bbox="348 815 1020 879">● Actualización de Recogida, conservación y manipulación de muestras<li data-bbox="348 895 1020 919">● Actualización de Notas importantes y procedimiento<li data-bbox="348 935 1020 959">● Actualización de Características del rendimiento<li data-bbox="348 975 1020 999">● Adición de la sección Apéndice<li data-bbox="348 1015 1020 1038">● Adición de la Guía para la resolución de problemas<li data-bbox="348 1054 1020 1078">● Actualización de la sección Símbolos<li data-bbox="348 1094 1020 1118">● Adición de Información sobre pedidos

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco

Acuerdo de licencia limitada para el QIAamp® DSP Virus Kit

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del producto la aceptación de los siguientes términos:

1. El producto puede utilizarse únicamente conforme a los protocolos suministrados con el producto y a estas instrucciones de uso y para su uso exclusivo con los componentes incluidos en el panel. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en este panel con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, estas instrucciones de uso y otros protocolos disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este panel ni su(s) uso(s) no infrinjan derechos de terceros.
3. Este panel y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del panel aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los gastos judiciales, incluidas las costas procesales, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y/o con sus componentes.

Para consultar los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAamp® (QIAGEN Group). No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley aunque no se hayan identificado específicamente como tales.

1127541ES 06/2022 HB-3032-001 © 2022 QIAGEN. Todos los derechos reservados.

Pedidos www.qiagen.com/shop | Servicio técnico support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com