

Manual de instrucciones de uso del QIAsymphony[®] DSP Circulating DNA Kit



Versión 2



Para uso diagnóstico in vitro

Para su uso con el QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit



937556



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemania



1127534ES

Contenido

Uso previsto	4
Usuario previsto	4
Descripción y principio.....	5
Resumen y explicación	7
Materiales suministrados	8
Contenido del kit.....	8
Materiales necesarios pero no suministrados	9
Reactivos adicionales.....	9
Consumibles	9
Equipo	10
Protocolo y material de laboratorio	10
Advertencias y precauciones.....	11
Información de seguridad.....	11
Información para emergencias.....	12
Precauciones	12
Eliminación.....	13
Almacenamiento y manipulación de reactivos.....	14
Estabilidad en uso	14
Recogida, almacenamiento y manipulación de material de muestras	15
Procedimiento	16
Purificación automatizada en QIASymphony SP	16
Protocolo: Purificación de ADN circulante libre.....	22

Control de calidad.....	27
Limitaciones	27
Características del rendimiento	28
Guía de resolución de problemas.....	29
Símbolos	32
Información de contacto	34
Apéndice: Cuantificación de ADN circulante libre.....	35
Información para pedidos	36
Historial de revisiones del documento	38

Uso previsto

El QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit utiliza tecnología de partículas magnéticas para el aislamiento y la purificación automatizados de ADN circulante libre humano a partir de muestras biológicas.

El QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit se ha diseñado para su uso en diagnóstico in vitro.

Usuario previsto

El QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit está destinado a ser utilizado por usuarios profesionales, como técnicos y médicos que hayan recibido formación en técnicas de biología molecular.

Descripción y principio

La tecnología QIASymphony combina la velocidad y la eficiencia de la purificación de ácidos nucleicos basada en el intercambio aniónico con la práctica manipulación de las partículas magnéticas (figura 1, a continuación). El procedimiento de purificación está diseñado para garantizar una manipulación segura y reproducible de muestras potencialmente infecciosas, y comprende 3 pasos: unión, lavado y elución (consulte el diagrama de la página 6). El usuario puede elegir entre distintos volúmenes de introducción de muestras.

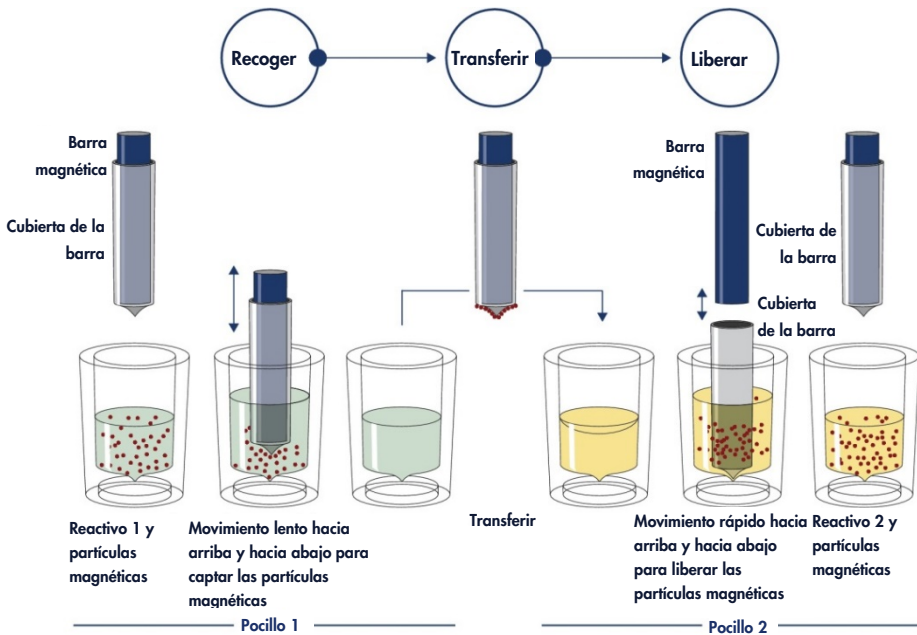
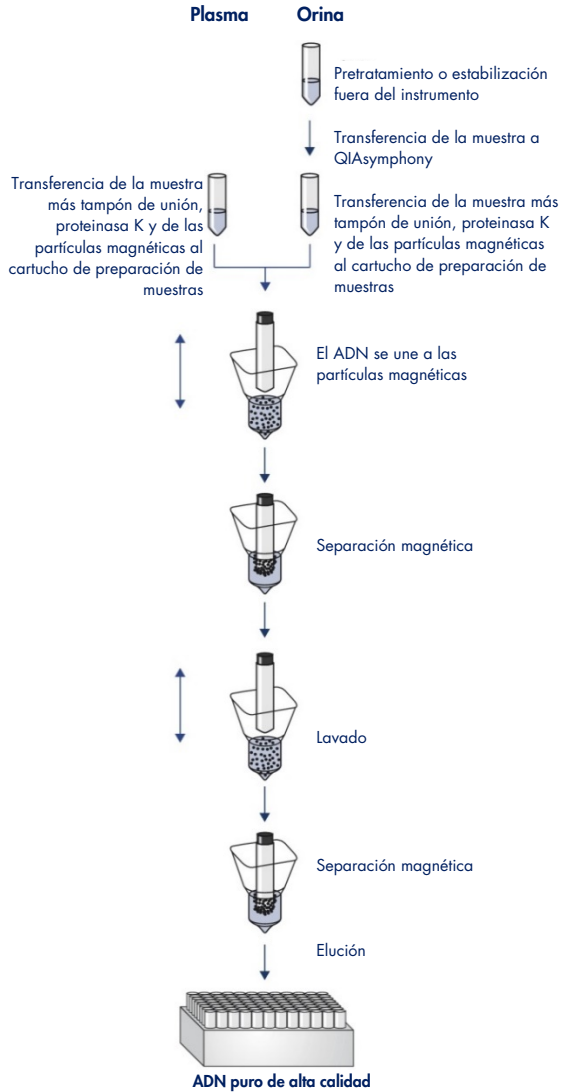


Figura 1. Diagrama esquemático del principio de QIASymphony SP. El instrumento QIASymphony SP procesa una muestra que contiene partículas magnéticas de la forma siguiente: una barra magnética protegida por una cubierta entra en un pocillo que contiene la muestra y atrae las partículas magnéticas. La cubierta de la barra magnética se sitúa encima de otro pocillo y se liberan las partículas magnéticas. Estos pasos se repiten varias veces durante el procesamiento de las muestras. El instrumento QIASymphony SP utiliza un cabezal magnético que contiene una matriz de 24 barras magnéticas de modo que puede procesar simultáneamente un máximo de 24 muestras.

Procedimiento de QIASymphony DSP Circulating DNA



Resumen y explicación

Los ácidos nucleicos libres circulantes (ccfNA) suelen estar presentes en plasma o en orina como fragmentos cortos, <1000 pb (ADN) y <1000 nt (ARN). La concentración de los ccfNA en los líquidos biológicos, como plasma y orina, suele ser baja y varía considerablemente entre los sujetos. Para los ccfNA, la concentración puede variar entre 1 y 100 ng/ml. El sistema QIASymphony DSP Circulating DNA constituye un sistema *in vitro* listo para usar para la purificación cualitativa de ADN circulante libre humano (ccfDNA) procedente de plasma humano y orina mediante el instrumento QIASymphony SP.

El QIASymphony DSP Circulating DNA Kit proporciona reactivos para la purificación totalmente automatizada y simultánea de ccfDNA humano procedente de plasma y orina humanos. La característica de rendimiento para cada tubo de recogida de sangre no se ha especificado y debe ser validada por el usuario. La tecnología de partículas magnéticas permite purificar ácidos nucleicos de alta calidad que carecen de proteínas, nucleasas y otras impurezas. El ccfDNA es compatible con una amplia gama de aplicaciones posteriores. El instrumento QIASymphony SP realiza todos los pasos del procedimiento de purificación. En una sola serie se procesan hasta 96 muestras, en lotes de 24. Puede ser necesario un pretratamiento manual de las muestras de orina.

Materiales suministrados

Contenido del kit

QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit

(192)

N.º de catálogo

937556

Número de reacciones

192

Abreviaturas	Denominación	Cantidad	Principios activos	Concentración [%]*
RC	Reagent cartridge (Cartucho de reactivos)† REAG CART	2	Detergente no iónico Partícula magnética de intercambio aniónico NaOH Etanol	de ≥0,5 a <10 [p/p] n/a de ≥0,05 a <0,1 [p/p] de ≥70 a <90 [v/v]
PROTK PROTK	QIAGEN Proteinase K (Proteinasa K QIAGEN)	6 × 10 ml	Proteinasa K	de ≥1 a <3% [p/p]
PL	Piercing lid (Tapa de perforación)	2	n/a	n/a
RSS	Reuse Seal Set†	2	n/a	n/a
	Instructions for Use (Handbook) (Instrucciones de uso [manual de uso])	1	n/a	n/a

* Concentración máxima en un solo pocillo.

† Contiene azida sódica como conservante.

‡ Un Reuse Seal Set contiene 8 tiras de sellado para reutilización.

Materiales necesarios pero no suministrados

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes, que puede solicitar al proveedor del producto.

Reactivos adicionales

- Buffer ATL (para el pretratamiento de las muestras de orina; n.º de catálogo 939016)
- Tampón fosfato salino (PBS, puede ser necesario para completar los volúmenes de muestra)

Para obtener información adicional necesaria para el pretratamiento y la estabilización de las muestras de orina, consulte la hoja del protocolo que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Consumibles

- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (n.º de catálogo 997002)
- 8-Rod Covers (n.º de catálogo 997004)
- Filter-Tips, 200 and 1.500 µl (n.º de catálogo 990332 y 997024)
- Tubos de muestras. Para formatos compatibles de los tubos de muestras primarios y secundarios, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.
- Tubos o placas de elución. Para formatos compatibles de los tubos y placas de elución, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Equipo*

- QIAAsymphony SP (n.º de cat. 9001297)
- Agitador vorticial

Protocolo y material de laboratorio

Junto al manual de uso, las instrucciones de uso constan de la hoja de protocolo, la lista de materiales de laboratorio y las características del rendimiento, que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

* 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 referentes al 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.

Tenga en cuenta los siguientes riesgos:

- Cuando use tubos secundarios, asegúrese de que los ID de muestra no se mezclen durante la transferencia del ID de muestra del tubo primario al tubo secundario.
- Los ID de muestra también pueden introducirse manualmente (para obtener más información, consulte el *Manual del usuario de QIASymphony SP*). Si se introducen manualmente datos de ID incorrectos, se puede producir una correlación incorrecta entre la muestra y el paciente.

Información de seguridad

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para 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 hojas de datos SDS de todos los kits y componentes de los kits QIAGEN.

- Todos los materiales químicos y biológicos son potencialmente peligrosos. Los materiales de muestra son material potencialmente infeccioso y deben tratarse como material biopeligroso.

- Deseche los residuos de muestras y ensayos conforme a los procedimientos de seguridad local.

ADVERTENCIA Riesgo de lesiones personales



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

Los tampones en el cartucho de reactivos contienen azida sódica. Si se derraman tampones de los kit, límpielos con un detergente de laboratorio adecuado y agua. Si el líquido derramado contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie primero la zona afectada con agua y detergente de laboratorio y, a continuación, con hipoclorito sódico al 1% (v/v).

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 la seguridad se aplican a los componentes del QIAsymphony DSP Circulating DNA Kit.

MBS3

Sodium azide

Contiene: azida sódica. ¡Advertencia! Puede ser nocivo por ingestión. Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico en caso de malestar.

Proteinase K



Contiene: proteinasa K. ¡Peligro! Causa irritación leve de la piel. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado. Si se presentan síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico. EN CASO DE INHALACIÓN: en caso de dificultad para respirar, aleje a la víctima de la zona contaminada y manténgala en reposo en una posición cómoda para respirar. Llevar equipo de protección respiratoria.

QSW9



Contiene: etanol. ¡Peligro! Provoca irritación ocular grave. Líquido y vapor fácilmente inflamables. Eliminar el contenido/el recipiente en un centro de eliminación de residuos aprobado. Si la irritación ocular persiste: consultar a un médico. Conservar alejado del calor, chispas, llamas abiertas y superficies calientes. - No fumar. Consérvese en lugar bien ventilado. Consérvese fresco. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara.

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.

Para 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

El QIASymphony DSP Circulating DNA Kit debe almacenarse en posición vertical a temperatura ambiente (15–25 °C). Las partículas magnéticas de los cartuchos de reactivos mantienen su actividad cuando se conservan a dicha temperatura.

El QIASymphony DSP Circulating DNA Kit contiene solución de proteinasa K lista para usar que puede conservarse a temperatura ambiente.

Nota: En la etiqueta de la caja del QIASymphony DSP Circulating DNA Kit figura la fecha de caducidad del kit. El archivo de resultados documenta las fechas de caducidad únicamente para el cartucho de reactivos.

No utilice el QIASymphony DSP Circulating DNA Kit si ha caducado.

Estabilidad en uso

Los cartuchos de reactivos parcialmente usados pueden almacenarse durante un máximo de 4 semanas en posición vertical a temperatura ambiente (15-25 °C), lo que permite una reutilización rentable de los reactivos y un procesamiento más flexible de las muestras. Si utiliza parcialmente un cartucho de reactivos vuelva a colocar la cubierta del recipiente que contiene las partículas magnéticas y selle el cartucho de reactivos con las tiras de sellado para reutilización (RSS, Reuse Seal Strips) suministradas inmediatamente después de finalizar la serie del protocolo para evitar la evaporación.

Para evitar la evaporación de reactivos, el cartucho de reactivos debe estar abierto durante un máximo de 15 horas (incluidos los tiempos de procesamiento) a una temperatura ambiente máxima de 32 °C. El almacenamiento incorrecto de los componentes del kit puede acelerar el envejecimiento de los tampones.

El procesamiento de lotes con números de muestras bajos (<24) aumentará el tiempo que permanece abierto el cartucho de reactivos (RC, Reagent Cartridge) y los volúmenes de tampón necesarios, lo que reducirá potencialmente el número total posible de preparaciones de muestras por cartucho.

Evite la exposición de los cartuchos de reactivos a la luz ultravioleta (p. ej., utilizada para la descontaminación), ya que dicha exposición puede causar un envejecimiento acelerado de los cartuchos de reactivos y de los tampones.

Recogida, almacenamiento y manipulación de material de muestras

Para obtener más información sobre el procedimiento automatizado (incluida información sobre los tubos de muestras que pueden utilizarse con protocolos específicos), el almacenamiento y manipulación de las muestras, y sobre los pretratamientos para muestras específicas, consulte la hoja del protocolo y la lista de materiales de laboratorio correspondientes que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Procedimiento

Purificación automatizada en QIASymphony SP

El instrumento QIASymphony SP facilita y simplifica la preparación automatizada de muestras. Las muestras, reactivos y consumibles, así como los eluidos, están separados en cajones diferentes. Basta con cargar en el cajón adecuado las muestras, los reactivos suministrados en cartuchos especiales y los consumibles preengradillados antes de iniciar una serie. Inicie el protocolo y retire el ADN purificado del cajón "Eluate" (Eluidos) una vez finalizado el procesamiento. Consulte los manuales del usuario suministrados con el instrumento para conocer las instrucciones de funcionamiento.

Nota: Realizar el mantenimiento opcional no es obligatorio para el funcionamiento del equipo, pero sí es muy recomendable para reducir el riesgo de contaminación.

La gama de protocolos disponibles se encuentra en continua expansión, y pueden descargarse de forma gratuita protocolos adicionales de QIAGEN en www.qiagen.com en la pestaña de recursos de los kits individuales.

Carga de los cartuchos de reactivos en el cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles)

Los reactivos empleados en la purificación de ADN se encuentran en un innovador cartucho de reactivos (figura 2, página 17). Cada recipiente del cartucho de reactivos contiene un reactivo concreto, como partículas magnéticas, tampón de unión, tampón de lavado o tampón de elución. Los cartuchos de reactivos parcialmente usados pueden volver a cerrarse con las tiras de sellado para reutilización para un uso posterior, lo que evita la generación de residuos debido a restos de reactivos al final del procedimiento de purificación.



Figura 2. Cartucho de reactivos del instrumento QIAasyphony. El cartucho de reactivos contiene todos los reactivos necesarios para la ejecución del protocolo.

Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas están completamente en suspensión. Retire el recipiente de partículas magnéticas del bastidor del cartucho de reactivos, mézclelo enérgicamente mediante agitación vorticial durante al menos 3 minutos y vuelva a colocarlo en el bastidor del cartucho de reactivos antes del primer uso.

Nota: Las partículas magnéticas pueden cambiar el color. Esto no afecta al rendimiento.

Coloque el cartucho de reactivos en el soporte del cartucho de reactivos. Antes de utilizar un cartucho de reactivos por primera vez, coloque la tapa de perforación (Piercing Lid, PL) encima del cartucho de reactivos (figura 2, más atrás).

Nota: La tapa de perforación es afilada. Tenga cuidado al colocarla en el cartucho de reactivos. Asegúrese de situar la tapa de perforación correctamente orientada sobre el cartucho de reactivos.

Una vez retirada la cubierta del recipiente de partículas magnéticas, se carga el cartucho de reactivos en el cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles).

Los cartuchos de reactivos parcialmente usados pueden almacenarse hasta que vuelvan a necesitarse (consulte "Almacenamiento y manipulación de reactivos" en la página 14).

Nota: Se debe añadir proteinasa K de acuerdo con la información proporcionada en la hoja del protocolo, en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Nota: Asegúrese de que los cartuchos de reactivos, los recipientes de partículas magnéticas y los frascos de proteinasa K no se intercambien entre diferentes lotes del kit.

Carga del material de plástico en el cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles)

Se carga en el cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles) el siguiente material: cartuchos de preparación de muestras, 8-Rod Covers (ambos preengradillados en cajas unitarias) y puntas con filtro desechables (puntas de 200 µl suministradas en gradillas azules y puntas de 1500 µl suministradas en gradillas negras).

Nota: Asegúrese de retirar las cubiertas de las cajas unitarias antes de cargar las cajas unitarias en el cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles).

Nota: Las puntas tienen filtros que ayudan a prevenir la contaminación cruzada.

Las ranuras para gradillas de puntas de la mesa de trabajo del instrumento QIASymphony SP aceptan cualquiera de los dos tipos de gradilla de puntas. El instrumento QIASymphony SP identificará el tipo de puntas cargadas durante el examen de inventario.

Nota: No vuelva a llenar las gradillas de puntas ni las cajas unitarias para los cartuchos de preparación de muestras o para las 8-Rod Covers antes de iniciar otra serie del protocolo. El instrumento QIA Symphony SP puede utilizar cajas unitarias y gradillas de puntas parcialmente usadas.

Para los consumibles necesarios, consulte la hoja del protocolo correspondiente que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com. Si desea obtener información para pedidos de material de plástico, consulte la página 36.

Carga del cajón "Waste" (Desechos)

Los cartuchos de preparación de muestras y las 8-Rod Covers utilizados durante una serie se vuelven a engradillar en cajas unitarias vacías en el cajón "Waste" (Desechos). Asegúrese de que el cajón "Waste" (Desechos) contenga suficientes cajas unitarias vacías para el material de plástico de desecho que se genera durante la serie del protocolo.

Nota: Asegúrese de retirar las cubiertas de las cajas unitarias antes de cargar las cajas unitarias en el cajón "Waste" (Residuos). Si utiliza cajas de 8-Rod Covers para la recogida de cartuchos de preparación de muestras y 8-Rod Covers usados, asegúrese de haber retirado el separador de cajas.

Debe acoplarse a la parte anterior del cajón "Waste" (Desechos) una bolsa para las puntas con filtro usadas.

Nota: El sistema no comprueba si hay una bolsa para la eliminación de puntas. Asegúrese de que la bolsa para la eliminación de puntas esté correctamente acoplada antes de iniciar una serie del protocolo. Si desea obtener más información, consulte los manuales del usuario suministrados con el instrumento. Vacíe la bolsa para puntas después de procesar un máximo de 96 muestras para evitar un atasco de puntas.

Un recipiente para desechos recoge los desechos líquidos generados durante el procedimiento de purificación. El cajón "Waste" (Desechos) solamente puede cerrarse si el recipiente para desechos está colocado en su posición. Elimine los desechos líquidos de conformidad con la normativa local en materia de seguridad y medio ambiente. No esterilice en autoclave el frasco de desechos lleno. Vacíe el frasco de desechos a más tardar después de procesar un máximo de 96 muestras.

Carga del cajón "Eluate" (Eluidos)

Cargue la gradilla de elución correspondiente en el cajón "Eluate" (Eluidos). Dado que la conservación a largo plazo de eluidos en el cajón "Eluate" (Eluidos) puede dar lugar a la evaporación o condensación, se debe utilizar la posición de refrigeración. Utilice solo la ranura "Elution slot 1" (Ranura de elución 1) con el adaptador de refrigeración correspondiente.

Examen de inventario

Antes de comenzar una serie, el instrumento comprueba que se hayan cargado en los cajones correspondientes consumibles suficientes para los lotes en cola.

Preparación del material de muestra

Los QIAAsymphony DSP Circulating DNA Kits están diseñados para la purificación automatizada de ADN circulante libre humano procedente de plasma y orina humanos.

Evite la formación de espuma en el interior o en la superficie de las muestras. La espuma en las muestras puede provocar el pipeteado de un volumen de muestra incorrecto. Dependiendo del material de partida, es posible que sea necesario realizar un pretratamiento de la muestra. Las muestras deben equilibrarse a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de comenzar la serie.

Para obtener más información sobre el procedimiento automatizado (incluida información sobre los tubos de muestras que pueden utilizarse con protocolos específicos) y sobre los pretratamientos para muestras específicas, consulte la hoja del protocolo y la lista de materiales de laboratorio correspondientes que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Almacenamiento del ADN

Nota: La estabilidad del eluido depende en gran medida de varios factores y está relacionada con la aplicación posterior específica. Se ha establecido para el QS DSP Circulating DNA Kit junto con aplicaciones posteriores ejemplares. Es responsabilidad del usuario consultar las instrucciones de uso de la aplicación posterior específica que se utiliza en el laboratorio o validar todo el flujo de trabajo para establecer las condiciones de almacenamiento adecuadas.

Después de la preparación de la muestra, los eluidos pueden almacenarse a 2-8 °C hasta 1 mes y a -20 °C o a -80 °C durante un máximo de 2 meses. Los eluidos congelados no deben descongelarse más de tres veces.

Protocolo: Purificación de ADN circulante libre

Visión general de los protocolos

Tabla 1. Visión general de los protocolos

Muestra	Volumen de muestra (µl)	Volumen de elución (µl)	Protocolo QIAasymphony SP
Plasma, orina	2000	60	circDNA_2000_DSP
Plasma, orina	4000	60	circDNA_4000_DSP

Se proporciona información detallada en la hoja del protocolo y la lista de materiales de laboratorio, que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

El siguiente es un protocolo general para el uso de los kits QIAasymphony DSP. Se proporciona información detallada para cada protocolo, incluidos los volúmenes y tubos, en la hoja del protocolo que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Asegúrese de que sabe manejar bien el instrumento QIAasymphony SP. Consulte los manuales del usuario suministrados con el instrumento para conocer las instrucciones de funcionamiento.
- Realizar el mantenimiento opcional no es obligatorio para el funcionamiento del equipo, pero sí es muy recomendable para reducir el riesgo de contaminación.
- Antes de comenzar el procedimiento, lea el apartado “Descripción y principio”, en la página 5.

- Asegúrese de estar familiarizado con la hoja del protocolo correspondiente al procedimiento que desea utilizar. (Encontrará las hojas del protocolo en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com).
- Evite agitar de manera enérgica el cartucho de reactivos, ya que podría formarse espuma, lo cual puede provocar problemas para la detección del nivel de líquido.

Antes de comenzar un pretratamiento que requiera el uso del Buffer ATL, compruebe si se ha formado precipitado en el Buffer ATL. En caso necesario, disuelva el precipitado calentando el tampón en un baño de agua a 70 °C agitando suavemente. Aspire las burbujas presentes en la superficie del Buffer ATL.

Antes de comenzar

- Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas están completamente en suspensión. Agite con fuerza el contenedor que contiene las partículas magnéticas durante un mínimo de 3 minutos antes del primer uso.
- Asegúrese de que la tapa de perforación está colocada sobre el cartucho de reactivos y de que la tapa del recipiente de partículas magnéticas se ha retirado o, si se está utilizando un cartucho de reactivos parcialmente usado, asegúrese de que se han retirado las tiras de sellado para reutilización.
- La proteinasa K no está incluida en el cartucho de reactivos y debe ser proporcionada por el usuario (cajón de muestras, ranura A, posición 1, 2 o 3). Asegúrese de que se disponga del volumen correcto de proteinasa K. Para información detallada, consulte la hoja del protocolo que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.
- Si las muestras tienen un código de barras, oriéntelas en el soporte de tubos de forma que los códigos de barras miren hacia el lector de códigos de barras situado en el lado izquierdo del instrumento QIASymphony SP.
- Para información sobre tubos de muestra compatibles con un protocolo determinado, consulte la lista de materiales de laboratorio correspondiente que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

- Para información sobre volúmenes de muestra mínimos para tubos secundarios, consulte la lista de materiales de laboratorio correspondiente que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Procedimiento

1. Cierre todos los cajones y la tapa.
2. Encienda el instrumento QIASymphony SP y espere hasta que aparezca la pantalla **Sample Preparation** (Preparación de muestras) y haya finalizado el procedimiento de inicialización.

El interruptor de alimentación se encuentra en la esquina inferior izquierda del instrumento QIASymphony SP.

3. Inicie sesión en el instrumento.
4. Cargue la gradilla de elución correspondiente en el cajón "Eluate" (Eluidos).
No cargue una placa de 96 pocillos en la ranura "Elution slot 4" (Ranura de elución 4). Debe utilizarse la ranura "Elution slot 1" (Ranura de elución 1) con el adaptador de refrigeración correspondiente.

Si utiliza una placa de 96 pocillos, asegúrese de que esté correctamente orientada, ya que, de lo contrario, se podrían mezclar las muestras en fases posteriores del análisis.

Si utiliza la gradilla Elution Microtubes CL, quite el fondo girando la gradilla hasta que se suelte el fondo.

5. Asegúrese de que el cajón "Waste" (Desechos) está correctamente preparado y, a continuación, realice un examen de inventario de dicho cajón, incluidos el conducto para puntas y el recipiente para desechos líquidos. En caso necesario, sustituya la Tip disposal bag para la eliminación de puntas.
6. Cargue los cartuchos de reactivos y los consumibles requeridos en el cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles).
7. Realice un examen de inventario del cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles).

8. Coloque las muestras en el soporte para muestras adecuado y cárguelas en el cajón "Sample" (Muestras).
9. Mediante la pantalla táctil, introduzca la información requerida para cada lote de muestras y para la proteinasa K que se vaya a procesar.

Introduzca la siguiente información:

- Información de la muestra (dependiendo de las gradillas de muestras utilizadas).
- Protocolo que se vaya a ejecutar (Assay Control Set [Juego de controles de ensayo]).
- Volumen de elución y posición de salida.

Una vez introducida la información sobre el lote, el estado cambia de LOADED (Cargado) a QUEUED (En cola). Tan pronto como un lote está en cola, aparece el botón Run (Serie).

10. Coloque la proteinasa K en el soporte para muestras adecuado en la posición 1, 2 o 3 y cárguela en la ranura A del cajón "Sample" (Muestras).
11. Defina la proteinasa K pulsando el botón IC.
12. Pulse el botón Run (Serie) para comenzar el procedimiento de purificación.

Todos los pasos del procesamiento están totalmente automatizados. Al finalizar la serie del protocolo, el estado del lote cambia de RUNNING (En procesamiento) a COMPLETED (Finalizado).

13. Retire la gradilla de elución que contiene los ácidos nucleicos purificados del cajón "Eluate" (Eluidos).
14. El ADN está listo para usar o puede guardarse a 2-8 °C, -20 °C o -80 °C.

Recomendamos retirar la placa de eluidos del cajón "Eluate" (Eluidos) nada más finalizar la serie. Dependiendo de la temperatura y de la humedad, las placas de elución dejadas en el instrumento QIA Symphony SP una vez finalizada la serie pueden experimentar condensación o evaporación.

En general, las partículas magnéticas no se transfieren a los eluidos. Si se produce este arrastre, las partículas magnéticas presentes en los eluidos no afectarán a la mayoría de las aplicaciones posteriores.

Si es necesario retirar las partículas magnéticas antes de realizar las aplicaciones posteriores, en primer lugar los tubos o las placas que contienen los eluidos deben colocarse en un imán adecuado y, a continuación, los eluidos deben transferirse a un tubo limpio (consulte el “Guía de resolución de problemas”, página 29).

Se generan archivos de resultados para cada placa de elución.

15. Si utiliza un cartucho de reactivos solo parcialmente, séllelo inmediatamente con las tiras de sellado para reutilización suministradas después de finalizar la ejecución del protocolo, para evitar la evaporación.

Nota: Para obtener más información sobre el almacenamiento de cartuchos de reactivos parcialmente usados, consulte “Almacenamiento y manipulación de reactivos” en la página 14.

16. Elimine los tubos de muestras usados y el material de desecho de conformidad con la normativa local en materia de seguridad.

Consulte “Advertencias y precauciones” en la página 11 si desea obtener información relativa a la seguridad.

17. Limpie el instrumento QIASymphony SP.

Siga las instrucciones de mantenimiento indicadas en los manuales del usuario suministrados con el instrumento. Asegúrese de limpiar la protección de las puntas periódicamente para minimizar el riesgo de contaminación cruzada.

18. Cierre los cajones del instrumento y apague el instrumento QIASymphony SP.

Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del QIASymphony DSP Circulating DNA Kit se analiza en relación con especificaciones predeterminadas para garantizar la uniformidad de la calidad de los productos.

Limitaciones

El rendimiento del sistema se ha establecido en estudios de evaluación del rendimiento mediante la purificación de ccfDNA humano procedente de plasma y orina humanos.

Es responsabilidad del usuario validar 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 reducir al mínimo el riesgo de que se produzcan efectos negativos sobre los resultados diagnósticos, deben utilizarse controles apropiados para las aplicaciones posteriores. Para validaciones adicionales se recomiendan las directrices de la International Conference on Harmonization of Technical Requirements (Conferencia Internacional sobre Armonización de los requisitos técnicos) (ICH) detalladas en *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*.

Todo resultado diagnóstico que se genere debe interpretarse en combinación con otros datos clínicos o de laboratorio.

Características del rendimiento

Encontrará las características del rendimiento aplicables en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Guía de 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 Frequently Asked Questions (Preguntas frecuentes) 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

Aparece un mensaje de error en la pantalla táctil	Si aparece un mensaje de error durante un protocolo, consulte los manuales del usuario suministrados con el instrumento.
---------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Precipitado en el recipiente de reactivos de un cartucho abierto del QIASymphony DSP Kit

- | | |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Evaporación de los tampones | Un exceso de evaporación puede provocar un aumento de la concentración de sal en los tampones. Deseche el cartucho de reactivos. Asegúrese de sellar los recipientes de tampón de un cartucho de reactivos parcialmente usado con las tiras de sellado para reutilización cuando no se estén utilizando para la purificación. |
| b) Almacenamiento del cartucho de reactivos | El almacenamiento del cartucho de reactivos a una temperatura inferior a 15 °C puede causar la formación de precipitados. |
-

Rendimiento bajo de ADN

- | | |
|---------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Las partículas magnéticas no estaban completamente resuspendidas | Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas estén completamente resuspendidas. Mezcle mediante agitación vorticial durante al menos 3 minutos antes del uso. |
| b) Atasco de la punta de pipeta debido a material insoluble | No se eliminó de la muestra el material insoluble antes de comenzar el procedimiento de purificación con el instrumento QIASymphony.
En caso necesario, utilice los procedimientos de pretratamiento descritos en las hojas del protocolo correspondientes que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com . |

Comentarios y sugerencias

- | | | |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| c) | El material de la muestra contiene una baja concentración de ADN libre circulante (circulating cell-free DNA, ccfDNA) | Debido a las cantidades muy bajas de ccfDNA, es posible que en función del método de cuantificación utilizado, no se detecte la concentración de ADN.
Se recomienda utilizar una PCR cuantitativa (<i>quantitative polymerase chain reaction</i> , qPCR) para comprobar la concentración de ADN en los eluidos. |
| d) | Cierre incompleto del cartucho de reactivos | El contacto con el aire del entorno puede reducir la estabilidad de los tampones y reducir en consecuencia la eficacia de la extracción de ccfDNA con un cartucho de reactivos parcialmente usado. Asegúrese de sellar meticulosamente los recipientes de tampón de un cartucho de reactivos parcialmente usado con las tiras de sellado para reutilización cuando no se estén utilizando para la purificación. |
| e) | Degradación rápida del ccfDNA en muestras de orina no estabilizadas | Debido a la degradación rápida del ccfDNA en muestras de orina no estabilizadas después de la recogida, es posible que no se detecte o solo se detecten concentraciones bajas de ADN en los eluidos. Se recomienda estabilizar las muestras de orina como se describe en la hoja del protocolo correspondiente.

O bien, someta las muestras de orina inmediatamente después de la recogida y el centrifugado a un pretratamiento con ATL y a una extracción de ADN posterior en el instrumento, como se describe en la hoja del protocolo correspondiente. |

No hay transferencia de muestras o transferencia de muestras incompleta

- | | | |
|----|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) | Se carga un volumen de muestra incorrecto | Si se carga un volumen de muestra inferior a 2,4 ml e inferior a 4,5 ml, hay un mayor riesgo de que la muestra presente una marca ambigua.

Si se carga un volumen de muestra inferior a 1,4 ml e inferior a 3,6 ml, hay un mayor riesgo de que la muestra presente una marca no válida y de que no se transfiera la muestra.

Cargue el volumen de muestra correcto como se describe en la lista de materiales de laboratorio correspondiente. Si la cantidad de muestra es insuficiente, añada PBS a la muestra hasta obtener el volumen necesario antes de cargar la muestra. |
| b) | Burbujas o espuma en el tubo de muestras. | Las burbujas o espuma en la muestra o en el tubo de introducción de muestras puede provocar una detección incorrecta del nivel de líquido y una transferencia posterior incompleta de la muestra. Elimine las burbujas del tubo de muestras. |

Burbujas en las puntas visibles durante el funcionamiento del instrumento

Utilización de material de laboratorio FIX en combinación con un volumen reducido de introducción de muestras

Si se carga un volumen de muestra inferior a 2,1 ml e inferior a 4,1 ml, utilizando material de laboratorio FIX, hay un mayor riesgo de que se produzca una transferencia reducida del volumen de muestra que no se detecta con el instrumento. Esto puede producir formación de burbujas durante la transferencia de la muestra o el paso de unión posterior.

Si utiliza material de laboratorio FIX, cargue el volumen de muestra correcto como se describe en la lista de materiales de laboratorio correspondiente. Si la cantidad de muestra es insuficiente, añada PBS a la muestra hasta obtener el volumen necesario antes de cargar la muestra.

Sedimento marrón visible en el eluido

Arrastre de microesferas en el eluido












Si se produce este arrastre, las partículas magnéticas presentes en los eluidos no afectarán a la mayoría de las aplicaciones posteriores.





Si fuese necesario eliminar las partículas magnéticas, aplique el tubo que contiene el ADN a un separador magnético adecuado hasta que se separen las partículas magnéticas.

Si no se dispone de un separador magnético adecuado, centrifugue el tubo que contiene el ADN durante 1 min a máxima velocidad en una microcentrifugadora para generar un sedimento con todas las partículas magnéticas que queden en el tubo.

Símbolos

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

Símbolo	Definición del símbolo
 Σ <N>	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
	Contenido
	Número
	Número mundial de artículo comercial

Símbolo	Definición del símbolo
Rn	"R" es la revisión de las Instrucciones de uso y "n" es el número de revisión
	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Consultar las instrucciones de uso
	Advertencia/precaución
PROTK	Proteinasa K
WELL	Número de pocillo (es decir, pocillo del cartucho de reactivos)
REAG CART	Cartucho de reactivos
Sodium azide	Azida sódica
E1OH	Etanol
UDI	Identificador único de dispositivo

Información de contacto

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, visite nuestro Centro de servicio técnico en el sitio www.qiagen.com/Support, llame al 00800-22-44-6000 o póngase en contacto con uno de los departamentos del servicio técnico de QIAGEN o con los distribuidores locales (consulte la contraportada o visite www.qiagen.com).

Apéndice: Cuantificación de ADN circulante libre

Debido a las concentraciones muy bajas de ADN libre circulante (circulating cell-free DNA, ccfDNA) en los materiales de muestra, no se recomienda efectuar la medición del ADN con un espectrofotómetro. Para determinar la concentración de ADN circulante libre se recomienda utilizar un ensayo de cuantificación sensible y preciso basado en fluorescencia o un ensayo de PCR.

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de cat.
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Incluye 2 cartuchos de reactivos y tubos con proteinasa K y accesorios	937556
QIASymphony SP	Módulo de preparación de muestras QIASymphony, garantía de 1 año para piezas y mano de obra	9001297
Productos relacionados		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml de Buffer ATL para el pretratamiento de muestras de orina	939016
Proteinase K (10 ml)	1 frasco de 10 ml	19134
Reagent Cartridge Holder (2)	Soporte de cartucho de reactivos para utilizar con el instrumento QIASymphony SP	997008
Cooling Adapter, 2 ml, v2, Qsym	Adaptador de refrigeración para tubos de tapa de rosca de 2 ml. Para utilizar en el cajón "Eluate" (Eluidos) del instrumento QIASymphony	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Adaptador de refrigeración para gradillas EMT. Para utilizar en el cajón "Eluate" (Eluidos) del instrumento QIASymphony	9020730
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Adaptador de refrigeración para tubos Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock de 1,5 ml. Para utilizar en el cajón "Eluate" (Eluidos) del instrumento QIASymphony	9020731

Producto	Contenido	N.º de cat.
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartuchos de preparación de muestras de 8 pocillos para utilizar con el instrumento QIASymphony SP	997002
8-Rod Covers (144)	8-Rod Covers para su uso con QIASymphony SP	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Puntas con filtro desechables engradilladas; (8 × 128). Para utilizar con los instrumentos QIAcube® y QIASymphony SP/AS	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Puntas con filtro desechables engradilladas; (8 × 128). Para utilizar con el instrumento QIASymphony SP/AS	997024
Tip Disposal Bags (15)	Tip disposal bags para utilizar con el instrumento QIASymphony SP	9013395
Reuse Seal Set (20)	Reuse seal sets para el sellado de cartuchos de reactivos del instrumento QIASymphony parcialmente usados	997006
Elution Microtubes CL (24 × 96)	Tubos de polipropileno no estériles (capacidad máxima de 0,85 ml, menos de 0,7 ml de capacidad de almacenamiento, 0,4 ml de capacidad de elución); 2304 en gradillas de 96; incluye tiras de tapas	19588

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>Versión 2, revisión 1</p> <ul style="list-style-type: none">• Actualización a la versión 2 para cumplir con IVDR• Actualización de Materiales suministrados (se añadieron los principios activos)• Actualización de Advertencias y precauciones• Actualización de Almacenamiento y manipulación de reactivos• Se añadió la sección Eliminación <p>Actualización de la guía de resolución de problemas (se añadió el arrastre de microesferas)</p>

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 QIASymphony DSP Circulating DNA 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®, QIASymphony®, QIAcube® (QIAGEN Group); Eppendorf® (Eppendorf AG). Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc., utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.

Junio -2022 HB-3034-001 1127534ES © 2022 QIAGEN, reservados todos los derechos.

