



Junio de 2022

Instrucciones de uso del QIA Symphony[®] DSP DNA Mini Kit (hoja de protocolo)

Protocolo VirusBlood200_V5_DSP

Versión 2

IVD

Para uso diagnóstico in vitro

Para su uso con QIA Symphony DSP DNA Mini Kit (192)



REF

937236



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemania

R1

La hoja de protocolo está disponible electrónicamente y puede encontrarse en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Información general

El QIAAsymphony DSP DNA Kit se ha diseñado para diagnóstico in vitro.

Este protocolo es para la purificación del ADN vírico de sangre total humana fresca utilizando el instrumento QIAAsymphony SP y el QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit. El ADN viral de virus liberados y de virus asociados a células es copurificado con el ADN genómico de las células sanguíneas.

Kit	QIAAsymphony DSP DNA Mini Kit (n.º de catálogo 937236)
Material de muestra	Sangre humana (anticoagulada con EDTA o citrato)
Nombre del protocolo	VirusBlood200_V5_DSP
Conjunto de controles de ensayo predeterminado	ACS_VirusBlood200_V5_DSP_default IC
Editable	Volumen de elución: 60, 85, 110 y 165 µl
Versión del software requerida	Versión 4.0 o superior
Configuración del software requerida para el uso IVD	Perfil predeterminado 1

Materiales necesarios pero no suministrados

Para la preparación de la mezcla de control interno-Buffer ATE

- 2 ml sample tube (Sarstedt®, n.º de cat. 72.693, sin base de apoyo)
- 2 ml sample tube (Sarstedt, n.º de cat. 72.694, con base de apoyo)
- BD™ 14 ml Falcon polystyrene round-bottom tube (n.º de cat. 352051)

Cajón «Sample» (Muestras)

Tipo de muestra	Sangre humana total (anticoagulada con EDTA, citrato o heparina)
Volumen de muestra	Depende del tipo de tubo de muestra usado; si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com .
Tubos de muestra primarios	Si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com .
Tubos de muestra secundarios	Si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com .
Insertos	Depende del tipo de tubo de muestra usado; si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com .
Otro	Se requiere una mezcla de control interno-Buffer ATE; el uso de un control interno es opcional.

Cajón «Reagents and Consumables» (Reactivos y consumibles)

Posición A1 y/o A2	Cartucho de reactivos (RC)
Posición B1	n/a
Soporte de gradillas de puntas 1-17	Puntas con filtro desechables, 200 µl o 1500 µl
Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias que contienen cartuchos de preparación de muestras o 8-Rod Covers

n/a = no aplicable.

Cajón «Waste» (Desechos)

Soporte de caja unitaria 1-4	Cajas unitarias vacías
Soporte de la bolsa de desechos	Bolsa de desechos
Soporte para frasco de desechos líquidos	Frasco de desechos líquidos vacío

Cajón «Eluate» (Eluidos)

Gradilla de elución (recomendamos utilizar la ranura 1, posición de refrigeración)

Si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Materiales de plástico necesarios

Material de plástico	Un lote 24 muestras*	Dos lotes 48 muestras*	Tres lotes 72 muestras*	Cuatro lotes 96 muestras*
Disposable filter-tips, 200 µl†	26	50	74	98
Disposable filter-tips, 1500 µl†	98	188	278	368
Sample prep cartridges§	21	42	63	84
8-Rod Covers¶	3	6	9	12

* Si se utilizan menos de 24 muestras por lote, se reduce el número de puntas con filtro desechables necesarias por serie analítica.

† Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas.

‡ El número de puntas con filtro necesarias incluye las puntas con filtro para 1 examen de inventario por cartucho de reactivos.

§ Hay 28 cartuchos de preparación de muestras por caja unitaria.

¶ Hay doce 8-Rod Covers por caja unitaria.

Nota: Los números de puntas con filtro proporcionados pueden diferir de los números mostrados en la pantalla táctil dependiendo de la configuración. Recomendamos cargar el número máximo posible de puntas.

Volumen de elución seleccionado

Volumen de elución seleccionado (µl)*	Volumen de elución inicial (µl)†
60	90
85	115
110	140
165	195

* El volumen de elución se selecciona en la pantalla táctil. Se trata del volumen accesible mínimo de eluido presente en el tubo de elución final.

† Volumen inicial de solución de elución necesario para garantizar que el volumen real de eluido sea el mismo que el volumen seleccionado.

Preparación de la mezcla de control interno-Buffer ATE

El uso del protocolo VirusBlood200_V5_DSP en combinación con sistemas de amplificación que utilizan un control interno puede requerir la introducción de estos controles internos en el procedimiento de purificación para vigilar la eficiencia de la preparación de las muestras y del ensayo anterógrado.

La cantidad de control interno que se añade depende del sistema de ensayo y del volumen de elución seleccionado en el protocolo VirusBlood200_V5_DSP. El usuario debe realizar el cálculo y la validación. Consulte las instrucciones del fabricante sobre el ensayo anterógrado para determinar la concentración óptima de control interno.

Los controles internos deben añadirse con la mezcla de control interno-Buffer ATE (ATE) en un volumen total de 60 µl. Puede utilizarse una mezcla de controles internos para analizar diferentes parámetros de un solo eluido. El usuario debe validar la compatibilidad de controles internos diferentes. Recomendamos preparar mezclas frescas para cada serie justo antes del uso. Aunque no se utilice un control interno, sigue siendo necesario utilizar Buffer ATE.

Volumen de elución seleccionado (µl)	Volumen de elución inicial (µl)	Volumen de control interno (µl)*	Volumen de Buffer ATE (ATE) (µl)	Volumen final por muestra (µl)
60	90	9	51	60
85	115	11,5	48,5	60
110	140	14	46	60
165	195	19,5	40,5	60

* El cálculo de la cantidad de control interno se basa en los volúmenes de elución iniciales. El volumen vacío adicional depende del tipo de tubo de muestras usado para la mezcla de IC. Para obtener más detalles, consulte la lista de material de laboratorio disponible en www.qiagen.com.

Nota: Los valores mostrados en la tabla corresponden a la preparación de la mezcla de control interno-Buffer ATE para un ensayo anterógrado que requiere 0,1 µl de control interno por microlitro de eluido.

Se colocan tubos que contienen mezclas de control interno-Buffer ATE en un portatubos. El portatubos que contiene las mezclas de control interno y Buffer ATE debe colocarse en la ranura A del cajón «Sample» (Muestras).

Según el número de muestras que vayan a procesarse, recomendamos utilizar 2 ml tubes (Sarstedt, números de cat. 72.693 y 72.694) o 14 ml 17 x 100 mm polystyrene, round-bottom tubes (BD, n.º de cat. 352051) para la dilución del control interno, tal y como se describe en la tabla a continuación. Es posible dividir el volumen en dos o más tubos.

Cálculo del volumen de mezcla de control interno

Tipo de tubo*	Nombre que aparece en la pantalla táctil del QIASymphony	Cálculo del volumen de mezcla de control interno por tubo
2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, skirted (Sarstedt, n.º de cat. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\ddagger$
Microtube 2 ml with cap; microtube 2 ml, PP, non-skirted (Sarstedt, n.º de cat. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^\ddagger$
Tube 14 ml, 17 x 100 mm polystyrene round-bottom (BD, n.º de cat. 352051)	BD#352051 FalconPP 17 x 100	$(n \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\ddagger$

* Para conocer el/los inserto(s) necesarios, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

† Utilice esta ecuación para calcular el volumen necesario de mezcla de control interno (n = número de muestras; 60 µl = volumen de mezcla de control interno-Buffer ATE; 360 µl = volumen de vacío necesario por tubo). Por ejemplo, para 12 muestras ($n = 12$): $(12 \times 60 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1080 \mu\text{l}$. No llene el tubo con más de 1,92 ml (es decir, un máximo de 26 muestras por tubo). Si se van a procesar más de 26 muestras, utilice más tubos asegurándose de añadir el volumen de vacío por tubo.

‡ Utilice esta ecuación para calcular el volumen necesario de mezcla de control interno-Buffer ATE (n = número de muestras; 60 µl = volumen de mezcla de control interno-Buffer ATE; 600 µl = volumen de vacío necesario por tubo). Por ejemplo, para 96 muestras ($n = 96$): $(96 \times 60 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 6360 \mu\text{l}$.

Preparación del material de muestra

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 se pueden solicitar al proveedor del producto.

Para conocer las recomendaciones sobre la recogida general, el transporte y el almacenamiento, consulte la directriz MM13-A del Instituto de estándares clínicos y de laboratorio (CLSI) «Recogida, transporte, preparación y almacenamiento de muestras para métodos moleculares». Además, deberían seguirse las instrucciones del fabricante para el dispositivo de recogida de muestras seleccionadas durante la preparación de muestras, el almacenamiento, el transporte y la manipulación general.

Sangre total humana

Para aislar ADN viral, recomendamos usar muestras de sangre total tratadas con EDTA o citrato. Para períodos de conservación de hasta 7 días, recomendamos un almacenamiento entre 2 y 8 °C. Para períodos de conservación más largos, recomendamos congelar partes alícuotas a -20 °C hasta 3 meses o -80 °C hasta un año.

Nota: La estabilidad de las muestras depende en gran medida de diversos factores y se relaciona con la aplicación posterior específica. Se ha establecido para el QIASymphony DSP DNA Mini Kit en conjunto con aplicaciones posteriores ejemplares. Es responsabilidad del usuario consultar las instrucciones de uso para la aplicación posterior específica utilizada en su laboratorio y/o validar el flujo de trabajo completo para establecer las condiciones de almacenamiento apropiadas.

Si se utilizan muestras de sangre fresca en tubos primarios, mezcle bien las muestras de sangre (por ejemplo, invirtiendo los tubos varias veces) antes de cargarlas en el instrumento QIASymphony SP. Las muestras congeladas deben descongelarse rápidamente en un baño de agua a 37 °C con una agitación suave para garantizar la homogeneización y, a continuación, debe dejarse que se equilibren a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de iniciar el procedimiento. Para garantizar una transferencia fiable de las muestras, evite que se forme espuma en los tubos de muestra. Procure evitar la presencia de coágulos de sangre en las muestras y, en caso necesario, transfiera la muestra sin coágulos a un tubo nuevo.

Conservación de los eluidos

Se recomienda retirar la placa de eluidos del cajón «Eluate» (Eluidos) nada más finalizar la serie. Las placas de elución se pueden dejar en el instrumento QIASymphony SP una vez haya finalizado la serie durante la noche (como máximo 12 horas, incluido el tiempo de la serie; condiciones ambientales recomendadas: 18-26 °C y 20-75 % de humedad relativa). Dependiendo de la temperatura y de la humedad, el eluido puede experimentar condensación o evaporación.

Para la conservación a corto plazo de eluidos durante un máximo de 7 días, recomendamos conservar los ácidos nucleicos purificados a una temperatura de 2-8 °C. Para un tiempo de conservación superior a medio plazo, recomendamos almacenarlo a una temperatura de -20 °C o -80 °C.

Nota: La estabilidad del eluido depende en gran medida de diversos factores y se relaciona con la aplicación posterior específica. Se ha establecido para el QIASymphony DSP DNA Mini Kit en conjunto con aplicaciones posteriores ejemplares. Es responsabilidad del usuario consultar las instrucciones de uso para la aplicación posterior específica utilizada en su laboratorio y/o validar el flujo de trabajo completo para establecer las condiciones de almacenamiento apropiadas.

Sustancias interferentes





Las muestras de sangre con altas concentraciones de triglicéridos (>30 g/l) pueden reducir el rendimiento de ADNg.

Nota: Se realizó la prueba utilizando aplicaciones posteriores ejemplares para una evaluación de la calidad de los ácidos nucleicos extraídos. Sin embargo, las diferentes aplicaciones posteriores podrían tener diferentes necesidades con respecto a la pureza (p. ej., ausencia de posibles sustancias interferentes), por lo que es necesario establecer la identificación y las pruebas de sustancias relevantes como parte del desarrollo de aplicaciones posteriores para cualquier flujo de trabajo que involucre los QIAasymphony DSP DNA Mini Kits.

Nota: Según la norma ISO 20186-2:2019(E), la heparina de los tubos de recogida puede tener impacto en la pureza de los ácidos nucleicos aislados y el posible arrastre a los eluidos podría causar inhibiciones en algunas aplicaciones posteriores. Para la preparación de plasma, le recomendamos utilizar muestras de sangre con EDTA o citrato como anticoagulante.

Símbolos

Los siguientes símbolos aparecen en este documento. Para obtener una lista completa de los símbolos utilizados en las instrucciones de uso o en el embalaje y etiquetado, consulte el manual de uso.

Símbolo	Definición del símbolo
	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
Rn	«R» es la revisión de las Instrucciones de uso y «n» es el número de revisión
	Fabricante

Historial de revisiones

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 el IVD• Se ha añadido la sección de Materiales necesarios pero no suministrados• Se ha añadido la sección de Sustancias interferentes• Se ha añadido la sección Conservación de los eluidos• Se ha añadido la sección Símbolos• Se ha actualizado la sección Preparación del material de muestra

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales de uso y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.
06/2022 HB-3029-S06-001 © 2022, QIAGEN. Reservados todos los derechos.