



Junio de 2022

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

Protocolo DNA_Buffy_Coat_200_V7 DSP

Versión 2

IVD

Para uso diagnóstico in vitro

Para su uso con QIASymphony 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 QIASymphony DSP DNA Kit se ha diseñado para diagnóstico in vitro.

Este protocolo está indicado para la purificación de ADN mitocondrial y genómico total a partir de sangre total humana fresca o congelada utilizando el instrumento QIASymphony SP y el QIASymphony DSP DNA Mini Kit.

Kit	QIASymphony DSP DNA Mini Kit (n.º de catálogo 937236)
Material de muestra	Capa leucocítica (anticoagulada con EDTA, citrato o heparina)
Nombre del protocolo	DNA_BC_200_V7_DSP
Conjunto de controles de ensayo predeterminado	ACS_BC_200_V7_DSP
Editable	Volumen de elución: 200, 300 y 400 µl
Versión del software requerida	Versión 4.0 o superior
Configuración del software requerida para el uso IVD	Perfil predeterminado 1

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	n/a
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 .

n/a = no aplicable.

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 [†]	2	2	2	2
Disposable filter-tips, 1500 µl [†]	110	212	314	416
Sample prep cartridges [§]	18	36	54	72
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

El volumen de elución se selecciona en la pantalla táctil. En función del tipo de muestra y del contenido de ADN, el volumen final de eluido puede ser en hasta 15 µl inferior al volumen seleccionado. Debido a que el volumen de eluido puede diferir, recomendamos comprobar el volumen de eluido real cuando se utilice un sistema de preparación automatizada del ensayo que no verifique el volumen de eluido antes de la transferencia. La elución en volúmenes más bajos aumentan la concentración final de ADN, pero reducen ligeramente el rendimiento. Recomendamos utilizar un volumen de elución adecuado para la aplicación posterior prevista.

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.

Capa leucocítica

La capa leucocítica es una fracción de la sangre total con enriquecimiento de leucocitos. La eficiencia del enriquecimiento de leucocitos depende del procedimiento empleado para preparar la capa leucocítica y de la exactitud con la que se extrae la capa leucocítica. Prepare la capa leucocítica centrifugando muestras de sangre total que contengan un anticoagulante convencional (EDTA, citrato o heparina) a 900-1100 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C). Después de la centrifugación, pueden distinguirse tres fracciones diferentes: la capa transparente superior es plasma, la capa intermedia es la capa leucocítica, que contiene leucocitos concentrados, y la capa inferior contiene eritrocitos concentrados. Debe obtenerse aproximadamente 1 ml de fracción con leucocitos a partir de 10 ml de sangre total centrifugada, lo cual, por término medio, proporciona un enriquecimiento de entre 5 y 6 veces. Por ejemplo, 10 ml de sangre total con un recuento de leucocitos de 6×10^6 células/ml da lugar a 1 ml de capa leucocítica. Suponiendo un enriquecimiento de leucocitos de 5 veces, esto da lugar a 3×10^7 células/ml. Por consiguiente, en un protocolo que utiliza 200 µl de capa leucocítica, se utilizarán 6×10^6 células.

Para evitar sobrecargar el procedimiento de purificación del ADN, no prepare muestras de capa leucocítica con enriquecimientos superiores a 10 veces. Si las muestras de capa leucocítica tienen un enriquecimiento >10 veces, diluya las muestras hasta un enriquecimiento igual o inferior a 10 veces con solución salina tamponada con fosfato o utilice menos material de partida en el procedimiento de purificación del ADN.

Las muestras de capa leucocítica pueden utilizarse inmediatamente o conservarse a corto plazo hasta 7 días entre 2 y 8 °C o almacenarse -20 °C o a -80 °C para la purificación del ADN en una fecha posterior. 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.

Nota: La estabilidad de las muestras depende en gran medida de diversos factores y se relaciona con la aplicación posterior específica. 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.

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 un almacenamiento a corto plazo, los eluidos deben almacenarse a temperatura ambiente un máximo de 2 semanas. Para un almacenamiento a largo plazo, le recomendamos almacenarlo entre 2 y 8 °C, a -20 °C o -80 °C. Los eluidos congelados no deben descongelarse más de tres veces.

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.

Cuestión importante antes de comenzar

- Si la muestra contiene ARN, este puede ser copurificado por las partículas magnéticas QIASymphony. Para reducir al mínimo el contenido de ARN de la muestra, añada RNase A a la muestra antes de iniciar el procedimiento. La concentración final de RNase A debe ser de 2 mg/ml.

Limitaciones y sustancias interferentes





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

Nota: Tenga en cuenta que durante el desarrollo del QIA Symphony DSP DNA Mini Kit no se han observado indicaciones de que la heparina tenga un impacto negativo en el rendimiento. Sin embargo, la norma ISO 20186-2:2019(E) establece que 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. Por consiguiente, es responsabilidad del usuario validar si la heparina tiene una influencia negativa en su flujo de trabajo.

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 el QIA Symphony DSP DNA Mini Kit.

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	Versión 2, Revisión 1 <ul style="list-style-type: none">Actualización a la versión 2 para cumplir con el IVDSe ha añadido la sección Limitaciones y sustancias interferentesSe ha añadido la sección Conservación de los eluidosSe ha añadido la sección SímbolosSe 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). 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-S04-001© 2022, QIAGEN. Reservados todos los derechos.