



Junio de 2022

# Instrucciones de uso (manual de uso) del QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus Spin Kit



Versión 2



Para uso diagnóstico in vitro

Para uso con el QIAamp<sup>®</sup> DSP Virus Spin Kit



61704



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemania



1127542ES

# 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  |
| Purificación automatizada de ácidos nucleicos víricos<br>en el QIAcube Connect MDx ..... | 8  |
| Resumen y explicación.....   | 11 |
| Materiales suministrados .....   | 12 |
| Contenido del kit.....   | 12 |
| Componentes del kit .....  | 13 |
| Materiales necesarios pero no suministrados .....  | 14 |
| Reactivos adicionales.....   | 14 |
| Consumibles .....  | 14 |
| Equipo .....   | 14 |
| Solo para el procedimiento automatizado.....   | 14 |
| Advertencias y precauciones.....   | 16 |
| Información de seguridad.....  | 16 |

|  |    |
|--|----|
| Información para emergencias.....  | 17 |
| Precauciones .....   | 18 |
| Eliminación.....   | 19 |
| Almacenamiento y manipulación de reactivos.....  | 20 |
| Estabilidad en uso .....   | 20 |
| Recogida, almacenamiento y manipulación de las muestras .....  | 22 |
| Notas importantes .....  | 24 |
| Cuestiones importantes antes de comenzar .....   | 24 |
| Manipulación de las columnas QIAamp MinElute .....   | 25 |
| Centrifugación .....   | 25 |
| Procesamiento de las columnas QIAamp MinElute en una microcentrifugadora .....   | 26 |
| Preparación de reactivos y tampones.....   | 26 |
| Protocolo: Purificación de ácidos nucleicos víricos de plasma o suero<br>mediante una microcentrifugadora o el instrumento QIAcube Connect MDx ..... | 31 |
| Control de calidad.....  | 35 |
| Limitaciones .....   | 36 |
| Características del rendimiento .....  | 37 |
| Guía para la resolución de problemas .....   | 38 |
| Símbolos .....   | 42 |
| Apéndice.....  | 45 |
| Información para pedidos .....   | 46 |
| Historial de revisiones del documento .....  | 48 |

## Uso previsto

El QIAamp® DSP Virus Spin Kit está previsto para el aislamiento y purificación manuales, o automatizados, si se utiliza junto con el instrumento QIAcube® Connect MDx de ácidos nucleicos víricos de muestras de plasma y suero humanos.

El QIAamp DSP Virus Spin Kit utiliza la tecnología de membrana de gel de sílice (tecnología QIAamp) para aislar y purificar los ácidos nucleicos víricos procedentes de muestras de plasma y suero humanos.

Este producto está destinado a ser utilizado para diagnóstico in vitro por usuarios profesionales, como técnicos y médicos que hayan recibido formación en técnicas de biología molecular.

## Usuario previsto

El producto está concebido para que lo utilicen usuarios profesionales, como técnicos y médicos formados en técnicas de biología molecular.

# Descripción y principio

El procedimiento QIAamp DSP Virus Spin consta de 4 pasos (lisis, unión, lavado y elución) y se lleva a cabo con las columnas QIAamp MinElute® en una microcentrifugadora estándar o de forma automatizada, con el instrumento QIAcube Connect MDx. 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 Spin permite el procesamiento simultáneo de varias muestras. El QIAamp DSP Virus Spin 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 altamente desnaturalizantes a temperaturas elevadas. 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 centrifugación, 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.

El tubo de lavado (WT) de 2 ml (suministrado) complementa la columna QIAamp MinElute durante los pasos de carga y de lavado.

## 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 desde la columna QIAamp MinElute en tampón de elución (AVE) equilibrado a temperatura ambiente. Las columnas QIAamp MinElute permiten unos volúmenes de elución mínimos, de tan solo 20 µl en el procedimiento manual y de 60 µl en el procedimiento automatizado. Este pequeño volumen de elución permite obtener eluidos de ácidos nucleicos altamente concentrados.

En las aplicaciones anterógradas en las que se requieran volúmenes iniciales reducidos (p. ej., determinados ensayos de PCR y RT-PCR), un eluido más concentrado puede aumentar la sensibilidad del ensayo.

Para las aplicaciones anterógradas que requieran un volumen inicial mayor, el volumen de elución se puede aumentar hasta 150 µl en el procedimiento manual y hasta 100 µl en el procedimiento automatizado. No obstante, un aumento del volumen de elución reducirá la concentración de ácidos nucleicos en el eluido.

Debido al tampón de elución residual retenido por la membrana de la columna de centrifugación tras la centrifugación, el volumen del eluido recuperado puede ser menor que el volumen de tampón de elución aplicado a la columna. Además, el volumen del eluido recuperado depende de la naturaleza de la muestra.

Los ácidos nucleicos eluidos se recogen en tubos de elución (ET) de 1,5 ml (suministrados) y pueden conservarse a 2-8 °C durante 24 horas como máximo. Para el almacenamiento a largo plazo durante más de 24 horas, recomendamos almacenar los ácidos nucleicos purificados a -20 °C.

**Nota:** La estabilidad del eluido depende en gran medida de varios factores y guarda relación con la aplicación anterógrada específica. Se ha evaluado para el QIAamp DSP Virus Spin Kit junto con aplicaciones anterógradas ejemplares. Es responsabilidad del usuario consultar las instrucciones de uso de la aplicación anterógrada específica utilizada en su laboratorio o validar todo el flujo de trabajo para establecer unas condiciones de almacenamiento 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 Spin, 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 teniendo en cuenta 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 Spin 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.

## Purificación automatizada de ácidos nucleicos víricos en el QIAcube Connect MDx

El instrumento QIAcube Connect MDx realiza el aislamiento y la purificación de ácidos nucleicos de forma automatizada. Puede procesar un máximo de 12 muestras por serie.

Al automatizar el QIAamp DSP Virus Spin Kit en el QIAcube Connect MDx, el instrumento quizá procese menos de 50 muestras debido a volúmenes muertos, evaporación y consumo adicional de reactivos por el pipeteado automatizado. QIAGEN únicamente garantiza 50 preparaciones de muestras con el uso manual del QIAamp DSP Virus Spin Kit.



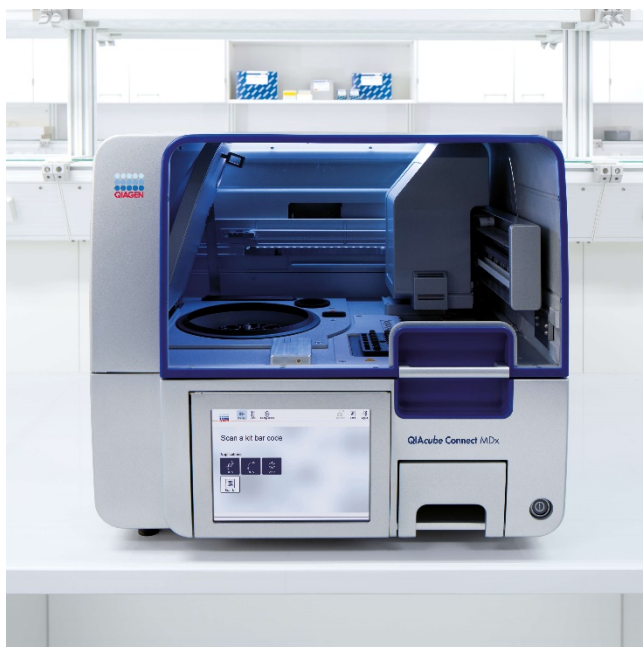
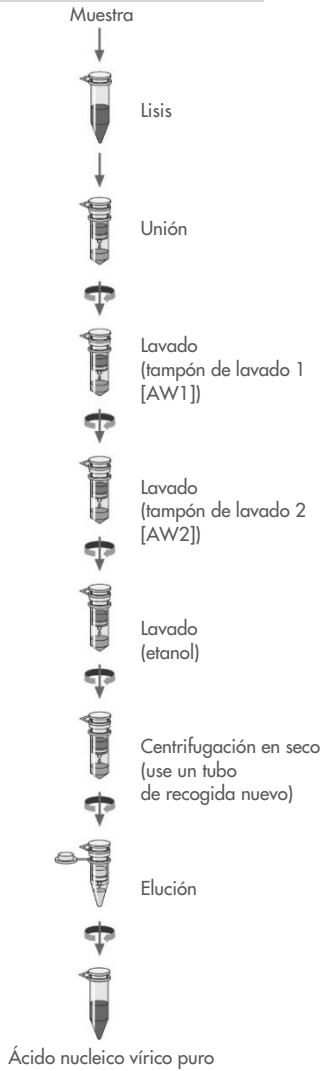


Figura 1. El QIAcube Connect MDx.

## Procedimiento QIAamp DSP Virus



Automatizable con el instrumento QIAcube Connect MDx

## Resumen y explicación

El QIAamp DSP Virus Spin Kit utiliza una tecnología sólidamente establecida para la purificación simultánea de ADN y ARN viral. El kit combina las propiedades de unión selectiva de una membrana de gel de sílice con volúmenes de elución flexibles de entre 20 y 150 µl en el flujo de trabajo manual.

El procedimiento es adecuado para plasma y suero; cualquiera de ellos puede contener citrato o EDTA. Las muestras pueden ser frescas o congeladas, siempre y cuando no se hayan congelado y descongelado más de una vez.

El procedimiento puede utilizarse para aislar ARN y ADN víricos de una amplia variedad de virus de ARN y ADN. Los sencillos procedimientos QIAamp DSP de centrifugación permiten el procesamiento simultáneo de varias muestras. El procedimiento puede automatizarse por completo en el instrumento QIAcube Connect MDx (página 9) para aumentar la estandarización y la facilidad de uso con volúmenes de elución de 60-100 µl en incrementos de 5 µl. El procedimiento ha sido diseñado para evitar la contaminación cruzada entre muestras y permitir la manipulación segura de muestras potencialmente infecciosas. Los ácidos nucleicos víricos se eluyen en tampón de elución (AVE), listos para usarse en reacciones de amplificación (PCR) o almacenarse a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su uso posterior.


# Materiales suministrados

## Contenido del kit

**QIAamp DSP Virus Spin Kit**  
N.º de catálogo

**61704**  
**50<sup>s</sup>**

Número de preparaciones

|                 |  |   |          |
|-----------------|--|---|----------|
| QIAamp MinElute | QIAamp MinElute columns with Wash tube (WT) (2 ml) (Columnas QIAamp MinElute con tubo de lavado [WT] [2 ml]) | <b>COL</b>  | 50       |
| LT              | Lysis Tubes (2 ml) (Tubos de lisis [2 ml])   | <b>LYS TUBE</b>   | 50       |
| ET              | Elution Tubes (1,5 ml) (Tubos de elución [1,5 ml])   | <b>ELU TUBE</b>   | 50       |
| WT              | Wash Tube (WT) (2 ml) (Tubos de lavado [WT] [2 ml])  | <b>WASH TUBE</b>  | 5 × 50   |
| AL              | Lysis Buffer* (Tampón de lisis)  | <b>LYS BUF</b>  | 33 ml    |
| AW1             | Wash Buffer 1 (AW1)* (concentrate) (Tampón de lavado 1 [AW1] [concentrado])                                  | <b>WASH BUF 1 CONC</b>  | 19 ml    |
| AW2             | Wash Buffer 2 (AW2) <sup>†</sup> (concentrate) (Tampón de lavado 1 [AW2] [concentrado])                      | <b>WASH BUF 2 CONC</b>  | 13 ml    |
| AVE             | Elution Buffer <sup>†</sup> (Tampón de elución) (tapones púrpura)  | <b>ELU BUF</b>  | 4 × 2 ml |
| PS              | Protease Solvent <sup>†</sup> (Disolvente de proteasa)   | <b>QPROT SOLV</b>   | 4,4 ml   |
| Carrier         | Carrier RNA (red caps) (ARN transportador) (tapones rojos)   | <b>CAR RNA</b>  | 310 µg   |
| QP              | QIAGEN Protease (Proteasa QIAGEN) (QP) <sup>‡</sup>  | <b>QPROT</b>  | 1 vial   |
| –               | Instrucciones de uso (manual de uso)   |  | 1        |

\* Contiene sales caótropas. Adopte las medidas de seguridad adecuadas y lleve guantes durante la manipulación. No es compatible con desinfectantes que contengan lejía. Para obtener más información, consulte la página 16.

<sup>†</sup> Contiene azida sódica como conservante.

<sup>‡</sup> Consulte “Preparación de reactivos y tampones”, página 26.

<sup>§</sup> Al automatizar el QIAamp DSP Virus Spin Kit en el QIAcube Connect MDx, el instrumento quizá procese menos de 50 muestras debido a volúmenes muertos, evaporación y consumo adicional de reactivos por el pipeteado automatizado. QIAGEN únicamente garantiza 50 preparaciones de muestras con el uso manual del QIAamp DSP Virus Spin Kit.

## Componentes del kit

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

| <b>Reactivo</b>      | <b>Principios activos</b>                 | <b>Concentración (p/p) [%]</b>                 |
|----------------------|---|--|
| QIAGEN Protease (QP) | Subtilisina                               | de $\geq 90$ a $\leq 100$                      |
| AL                   | Clorhidrato de guanidina<br>Ácido maleico | de $\geq 30$ a $< 50$<br>de $\geq 0,1$ a $< 1$ |
| AW1                  | Clorhidrato de guanidina                  | de $\geq 50$ 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
- Microcentrifugadora† (con rotor para tubos de 1,5 ml y 2 ml)
- Probeta graduada (50 ml)
- Agitador vorticial
- Para muestras <200 µl: solución de NaCl al 0,9 %

## Solo para el procedimiento automatizado

- QIAcube Connect MDx† (n.º de cat. 9003070)
- Rotor Adapters (n.º de cat. 990394)
- Rotor Adapter Holder (n.º de cat. 990392)
- Sample Tubes CB (2 ml, n.º de cat. 990382, tubo de entrada de la muestra)
- Shaker Rack Plugs (n.º de cat. 9017854)
- Reagent Bottles, 30 ml (n.º de cat. 990393)

\* 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.

- Filter-Tips, 1000 µl (n.º de cat. 990352)
- Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore (n.º de cat. 990452)
- Filter-Tips, 200 µl (n.º de cat. 990332)
- SafeSeal Tube, 1,5 ml, Sarstedt® (n.º de cat. 72.706)

# 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](http://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.



**PRECAUCIÓN:** NO añada lejía ni soluciones ácidas directamente a los residuos de la preparación de las muestras.-

- El tampón de lisis (AL) y el tampón de lavado 1 (AW1) contienen clorhidrato de guanidina, susceptible de 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 los procedimientos QIAamp DSP Virus Spin para determinar si contienen material residual infeccioso. La contaminación del residuo líquido con materiales residuales infecciosos es muy improbable, pero no se puede descartar completamente. Por consiguiente, el residuo líquido debe considerarse como infeccioso, y manipularse y desecharse siguiendo las normas de seguridad aplicables.
- 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 Spin 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. Puede obtenerlas en línea en formato PDF en [www.qiagen.com/safety](http://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.

# 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 son estables hasta la fecha de caducidad que figura en la caja del kit.

**Nota:** Para asegurarse de no mezclar componentes de kits distintos, etiquete las columnas QIAamp MinElute con el número de lote del kit respectivo.

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 del kit sin que su rendimiento se vea afectado.

## Estabilidad en uso

El ARN transportador solo puede disolverse en tampón de elución (AVE); para el procedimiento manual, el ARN transportador disuelto debe añadirse inmediatamente al tampón de lisis (AL) únicamente como se describe en la página 27. Esta solución debe prepararse nueva; es estable a 2-8 °C hasta 48 horas. Las porciones no utilizadas de ARN transportador disuelto en el tampón de elución (AVE) deben congelarse a -20 °C en 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 del kit. 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. Para preparar los tampones para el procedimiento automatizado, siga las instrucciones facilitadas en el *manual del usuario del instrumento QIAcube Connect MDx*.

# Recogida, almacenamiento y manipulación de las muestras

**Nota:** La estabilidad de las muestras depende en gran medida de diversos factores y guarda relación con la aplicación anterógrada específica. Se ha evaluado junto con aplicaciones anterógradas específicas. Es responsabilidad del usuario consultar las instrucciones de uso de la aplicación anterógrada específica utilizada en su laboratorio o validar todo el flujo de trabajo para establecer unas condiciones de almacenamiento adecuadas.

Para obtener información sobre las recomendaciones generales para la recogida, el transporte y el almacenamiento consulte la guía MM13-A del CLSI aprobada "Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods" (Recogida, transporte, preparación y almacenamiento de muestras para métodos moleculares). Además, durante la preparación, el almacenamiento, el transporte y la manipulación general de las muestras deberán seguirse las instrucciones del fabricante del dispositivo de recogida de muestras seleccionado.

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 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, se recomienda congelarlo en alícuotas a una temperatura comprendida entre -20 °C y -80 °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 3 minutos. El sobrenadante transparente 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 los estudios de interferencia ejemplares realizados con el QIAamp DSP Virus Spin Kit y en consonancia con la norma ISO 20186-2:2019(E), la heparina de los tubos de recogida de sangre podría repercutir en la pureza de los ácidos nucleicos aislados y el posible arrastre a los eluidos podría causar inhibiciones en algunas aplicaciones anterógradas. Por tanto, se recomienda usar 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 16). 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.
- 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 de 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 asegurarse de mantener 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.
- Para el proceso automatizado, siga las instrucciones que aparecen en la interfaz de usuario (QIAcube Connect MDx) y consulte el manual del usuario correspondiente (del instrumento QIAcube Connect MDx).



- 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.

## Centrifugación

- Los tubos de lavado (WT) y de elución para todos los pasos de centrifugación se suministran junto con el kit.
- El centrifugado de las columnas QIAamp MinElute se debe realizar a aproximadamente  $6000 \times g$  para reducir el ruido de centrifugado. El centrifugado de las columnas QIAamp MinElute a velocidad máxima no afectará a los valores de ADN o ARN.
- Para la centrifugación en seco al final del procedimiento de lavado o para la elución, el centrifugado se deberá realizar a velocidad máxima.
- Todos los pasos de centrifugado deben realizarse a temperatura ambiente (15-25 °C).

## Procesamiento de las columnas QIAamp MinElute en una microcentrifugadora

- Cierre la columna QIAamp MinElute antes de introducirla en la microcentrifugadora. Centrifugue del modo descrito.
- Extraiga la columna QIAamp MinElute y el tubo de lavado (WT) de la microcentrifugadora.
- Introduzca la columna QIAamp MinElute en un nuevo tubo de lavado (WT). Elimine el filtrado y el tubo de lavado (WT). Tenga en cuenta que el filtrado puede contener residuos peligrosos; elimínelo de la forma adecuada.
- Abra cada vez solo una columna QIAamp MinElute y evite generar aerosoles.

Para un procesamiento paralelo eficaz de varias muestras, recomendamos llenar una gradilla con tubos de lavado (WT) para poder transferir las columnas QIAamp MinElute después del centrifugado. Los tubos de lavado (WT) usados que contienen el filtrado se pueden eliminar y los nuevos tubos de lavado (WT) que contienen las columnas QIAamp MinElute se pueden introducir directamente en la microcentrifugadora.

## 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).\*


\* 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 16 si desea obtener información de seguridad.

## Adición del ARN transportador y el control interno al tampón de lisis (AL)\* (solo para el procedimiento manual)

Es recomendable emplear un control interno al usar el QIAamp DSP Virus Spin 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 suavemente invirtiendo el tubo diez veces. Para evitar la formación de espuma, no realice una agitación vorticial. Si se usa un control interno, reduzca el volumen de 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 elución. Recuerde que el QIAamp DSP Virus Spin Kit utiliza un volumen de muestra inicial de 200  $\mu\text{l}$ .

Para preparar la solución de ARN transportador, añada 310  $\mu\text{l}$  de tampón de elución (AVE) al tubo con 310  $\mu\text{g}$  de ARN transportador liofilizado para obtener una solución de 1  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . Disuelva bien el ARN transportador, repártalo en alícuotas del tamaño adecuado y guárdelas a una temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . No congele y descongele las alícuotas del ARN transportador más de 3 veces.

 El ARN transportador no se disuelve en el 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; para ello, seleccione en la Tabla 1 de la página 29 el número de muestras que se van a procesar simultáneamente. Para grandes cantidades de muestras, se puede utilizar el cálculo de muestras que aparece a continuación para calcular los volúmenes:

$$n \times 0,22 \text{ ml} = y \text{ ml}$$

$$y \text{ ml} \times 28 \text{ } \mu\text{l/ml} = z \text{ } \mu\text{l}$$

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

$y$  = volumen calculado de tampón de lisis (AL)

$z$  = volumen de ARN transportador y 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 (Vol.) de tampón de lisis (AL) y de mezcla de ARN transportador y tampón de elución (AVE) necesarios para números (n.º) específicos de muestras para el procedimiento QIAamp DSP Virus Spin\*

| N.º de muestras | Vol. de tampón de lisis (AL)* (ml) | Vol. de ARN transportador y AVE (µl) | N.º de muestras | Vol. de tampón de lisis (AL)* (ml) | Vol. de ARN transportador y AVE (µl) |
|-----------------|------------------------------------|--------------------------------------|-----------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| 1               | 0,22 ml                            | 6,2 µl                               | 13              | 2,86 ml                            | 80,1 µl                              |
| 2               | 0,44 ml                            | 12,3 µl                              | 14              | 3,08 ml                            | 86,3 µl                              |
| 3               | 0,66 ml                            | 18,5 µl                              | 14              | 3,30 ml                            | 92,4 µl                              |
| 4               | 0,88 ml                            | 24,6 µl                              | 16              | 3,52 ml                            | 98,6 µl                              |
| 5               | 1,10 ml                            | 30,8 µl                              | 17              | 3,74 ml                            | 104,7 µl                             |
| 6               | 1,32 ml                            | 37,0 µl                              | 18              | 3,96 ml                            | 110,9 µl                             |
| 7               | 1,54 ml                            | 43,1 µl                              | 19              | 4,18 ml                            | 117,0 µl                             |
| 8               | 1,76 ml                            | 49,3 µl                              | 20              | 4,40 ml                            | 123,2 µl                             |
| 9               | 1,98 ml                            | 55,4 µl                              | 21              | 4,62 ml                            | 129,4 µl                             |
| 10              | 2,20 ml                            | 61,6 µl                              | 22              | 4,84 ml                            | 135,5 µl                             |
| 11              | 2,42 ml                            | 67,8 µl                              | 23              | 5,06 ml                            | 141,7 µl                             |
| 12              | 2,64 ml                            | 73,9 µl                              | 24              | 5,28 ml                            | 147,8 µl                             |



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 tampón de elución (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 un control interno, reduzca el volumen de tampón de lisis (AL) en consonancia.

Para el procedimiento automatizado, prepare el ARN transportador en AVE según se describe más arriba (para obtener una solución de 1 µg/µl). En el paso siguiente, cargue en el instrumento QIAcube Connect MDx la cantidad suficiente de solución de ARN transportador para el número requerido de muestras y para dos muestras más. La cantidad requerida se muestra en la interfaz de usuario durante la carga. La adición del ARN transportador al tampón de lisis (AL) la realiza el instrumento QIAcube Connect MDx.

La mezcla de control interno se preparará según se describe en la pantalla del instrumento QIAcube MDx. El control interno se añadirá a la mezcla de ARN transportador-AVE.

## Preparación del tampón de lavado 1 (AW1)\*

Utilice una probeta graduada para añadir 25 ml de etanol (96-100 %) al frasco con 19 ml de tampón de lavado 1 (AW1) concentrado, como se describe en el frasco. 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.



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)†

Utilice una probeta graduada para añadir 30 ml de etanol (96-100 %) al frasco con 13 ml de tampón de lavado 2 (AW2) concentrado, como se describe en el frasco. 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.



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 16 si desea obtener información de seguridad.

† Contiene azida sódica como conservante.

# Protocolo: Purificación de ácidos nucleicos víricos de plasma o suero mediante una microcentrifugadora o el instrumento QIAcube Connect MDx

Para la purificación de ácidos nucleicos víricos a partir de 200 µl de plasma o suero tratado con EDTA o citrato a través del QIAamp DSP Virus Spin Kit con una microcentrifugadora, o de forma automatizada con el instrumento QIAcube Connect MDx.

## Cuestiones importantes antes de comenzar


- El siguiente procedimiento proporciona instrucciones para procesar una sola muestra. No obstante, es posible procesar varias muestras al mismo tiempo; el número dependerá de la capacidad de la microcentrifugadora utilizada.
- El procesamiento automatizado de 2-10 o 12 muestras se puede realizar en el instrumento QIAcube Connect MDx.
- Para la automatización, siga las instrucciones que aparecen en la interfaz de usuario (QIAcube Connect MDx) y el manual del usuario del instrumento QIAcube Connect MDx.

## 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 blísteres cerrados) están equilibrados a temperatura ambiente.
- Establezca un bloque calefactor a 56 °C para utilizarlo en el paso 4 (requerido para el procedimiento manual y el procedimiento automatizado con lisis manual fuera del instrumento).

- 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 las páginas 26-30.
- 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) al tampón de lisis (AL) según las instrucciones de la página 27 (solo para el procedimiento manual).
- Si es posible, utilice tampón de elución (AVE) fresco para cada procedimiento (se suministran cuatro tubos).
- 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.

## Procedimiento


- Para efectuar el procedimiento manual con una microcentrifugadora, siga los pasos 1-15.
  - Este procedimiento se puede automatizar en el QIAcube Connect MDx en dos versiones diferentes:
    - Plasma or Serum\_Standard (Plasma o suero, versión estándar): automatización completa con 200 µl de muestra (automatización a partir del paso 1)
    - Plasma or Serum\_Manual lysis (Plasma o suero, versión de lisis manual): automatización parcial con lisis manual fuera del instrumento con un volumen de 200 µl de muestra inicial (automatización a partir del paso 5)
1. Pipetee 25 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 200 µl de plasma o suero al tubo de lisis (LT).
 

**Nota:** Si el volumen de la muestra es inferior a 200 µl, añada una cantidad adecuada de solución de cloruro sódico al 0,9 % hasta obtener un volumen total de proteasa y de muestra de 225 µl.



3. Añada 200 µl de tampón de lisis (AL) (que contiene 28 µg/ml de ARN transportador y opcionalmente, control interno). Cierre el tapón y mezcle mediante agitación vorticial de pulsos durante un mínimo de 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. Incube a 56 °C durante 15 min en un bloque calefactor.
5. Centrifugue brevemente el tubo de lisis (LT) para eliminar las gotas del interior del tapón.

**Nota:** En caso de que la lisis manual (pasos 1-15) se realice fuera del instrumento, se pueden automatizar los siguientes pasos (pasos 6-15): “Protocolo de lisis manual” en el instrumento QIAcube Connect MDx.

6. Añada 250 µl de etanol (96-100 %) a la muestra, cierre la tapa y mezcle bien mediante agitación vorticial de pulsos durante  $\geq 15$  segundos. Incube el lisado con el etanol durante 5 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C).
7. Centrifugue brevemente el tubo para eliminar las gotas del interior de la tapa.
8. Aplique con cuidado todo el lisado obtenido en el paso 7 sobre la columna QIAamp MinElute procurando no humedecer el borde. Cierre la tapa y centrifugue a aproximadamente 6000  $\times g$  durante >1 minuto. Disponga la columna QIAamp MinElute en un tubo de lavado (WT) limpio de 2 ml y deseche el tubo de lavado (WT) que contiene el filtrado.

 Si el lisado todavía no ha atravesado completamente la columna tras el centrifugado, repita el centrifugado a una velocidad mayor hasta que la columna QIAamp MinElute esté vacía.

9. Abra con cuidado la columna QIAamp MinElute y añada 500 µl de tampón de lavado 1 (AW1) sin mojar el borde. Cierre la tapa y centrifugue a aproximadamente 6000 × g durante ≥1 minuto. Disponga la columna QIAamp MinElute en un tubo de lavado (WT) limpio de 2 ml y deseche el tubo de lavado (WT) que contiene el filtrado.
10. Abra con cuidado la columna QIAamp MinElute y añada 500 µl de tampón de lavado 2 (AW2) sin mojar el borde. Cierre la tapa y centrifugue a aproximadamente 6000 × g durante >1 minuto. Disponga la columna QIAamp MinElute en un tubo de lavado (WT) limpio de 2 ml y deseche el tubo de lavado (WT) que contiene el filtrado.
11. Abra con cuidado la columna QIAamp MinElute y añada 500 µl de etanol (96-100 %) sin mojar el borde. Cierre la tapa y centrifugue a aproximadamente 6000 × g durante >1 minuto. Deseche el tubo de lavado (WT) que contiene el filtrado.




El arrastre de etanol hacia el eluido puede causar problemas en las aplicaciones anterógradas. Algunos rotores de centrifugadora pueden vibrar durante la deceleración y provocar que el líquido que contiene etanol entre en contacto con la columna QIAamp MinElute. También puede producirse el contacto del líquido con la columna QIAamp MinElute al retirar la columna QIAamp MinElute y el tubo de lavado (WT) del rotor.


12. Introduzca la columna QIAamp MinElute en un tubo de lavado (WT) limpio de 2 ml. Centrifugue a velocidad máxima (aproximadamente 20 000 × g) durante 3 min para secar completamente la membrana.




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

13. Introduzca la columna QIAamp MinElute en un nuevo tubo de lavado (WT) de 2 ml, abra la tapa e incube el conjunto a 56 °C durante 3 min para secar completamente la membrana y evaporar el líquido restante.
14. Introduzca la columna QIAamp MinElute en un nuevo tubo de elución (ET) y elimine el tubo de lavado (WT) con el filtrado. Abra con cuidado la tapa de la columna QIAamp MinElute y aplique 20-150 µl de tampón de elución (AVE) en el centro de la membrana.


 Es importante usar un nuevo tubo de elución para evitar la contaminación con los restos de los tampones de lavado, lo que podría producir una inhibición del ensayo anterógrado.


 La dispensación del tampón de elución en el centro de la membrana es especialmente importante con volúmenes de elución menores para garantizar una recuperación óptima de los ácidos nucleicos y del tampón de elución.

 El volumen de elución se puede adaptar según las necesidades de la aplicación anterógrada. En el flujo de trabajo automatizado se pueden usar volúmenes de elución de 60-100 µl en incrementos de 5 µl. Recuerde que el volumen de eluido recuperado puede ser inferior al volumen de tampón de elución aplicado a la columna debido a la retención de tampón de elución en la membrana de la columna de centrifugación después de la centrifugación.

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

15. Cierre la tapa e incube a temperatura ambiente durante  $\geq 3$  min. Centrifugue a máxima velocidad (aproximadamente 20 000  $\times g$ ) durante 1 min.

 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).

 En el caso de los procedimientos automatizados, retire los eluidos del instrumento directamente después de terminar la serie y almacénelos de la forma adecuada.

## Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del QIAamp DSP Virus Spin Kit se analiza con respecto a una serie de 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 ácidos nucleicos víricos de muestras de plasma y suero humanos.

Es responsabilidad del usuario verificar el rendimiento del sistema con los procedimientos utilizados en cada laboratorio que no estén contemplados en los estudios de rendimiento de QIAGEN.

Para minimizar el riesgo de que se produzcan efectos negativos sobre el resultado diagnóstico, 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](http://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](http://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](http://www.qiagen.com)).

## Comentarios y sugerencias

---

### Manipulación general

- a) Obstrucción 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 obstruirán la membrana de la columna QIAamp MinElute. En caso de que aparezcan crioprecipitados, elimine la muestra mediante centrifugación durante 5 minutos a  $16\,000 \times g$ .
- b) Columna QIAamp MinElute obstruida
- Si el lisado no ha traspasado completamente la membrana tras el centrifugado a  $6000 \times g$  (8000 rpm), vuelva a centrifugar a velocidad máxima (hasta  $20\,800 \times g$ ) durante 1 min.
- Si el lisado sigue sin pasar por la membrana durante la centrifugación, deseche la muestra y repita el aislamiento y la purificación con nuevo material de muestra empezando por el paso 1.
- 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  $16\,000 \times g$ .
- El uso de etanol refrigerado con hielo durante la lisis puede contribuir a reducir el riesgo de obstrucción de la membrana. Además, es fundamental añadir los tampones para la lisis en el orden correcto descrito anteriormente. No añada la QIAGEN Protease (QP) directamente al tampón de lisis (AL).

## Comentarios y sugerencias

---

- c) Se ha formado un precipitado en el tampón de lisis      Disuelva el coágulo incubando 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 residual retenido por la membrana de la columna de centrifugación tras la centrifugación, el volumen del eluido recuperado puede ser menor que el volumen de tampón de elución aplicado a la columna.  
Aplique el tampón de elución en el centro de la membrana. La dispensación del tampón de elución en el centro de la membrana es especialmente importante con volúmenes de elución menores para garantizar una recuperación óptima de los ácidos nucleicos y del tampón de elución.
- e) En caso de problemas con el flujo de trabajo automatizado      Consulte el *Manual del usuario del instrumento QIAcube Connect MDx*.

---

### Rendimiento deficiente del ADN en las aplicaciones anterógradas

- a) Lisis incompleta de la muestra      Si la QIAGEN Protease (QP) se sometió a temperaturas elevadas durante un período de tiempo prolongado, es posible que pierda actividad. Repita el procedimiento con muestras nuevas y QIAGEN Protease (QP) sin usar.  
Asegúrese de disolver la QIAGEN Protease (QP) con Protease Solvent 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 del tampón de lisis (AL), asegúrese de añadir el volumen correcto de tampón de lisis (AL) pipeteando con cuidado y utilizando una pipeta adecuada.

## Comentarios y sugerencias

---

- 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 el tampón de lavado 1 (AW1) y el tampón de lavado 2 (AW2) concentrados se diluyeron con el volumen correcto de etanol al 96-100 % y que se mezclaron invirtiendo el frasco varias veces antes de iniciar el procedimiento.
- d) Las muestras de plasma y suero no se prepararon, almacenaron 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 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, se recomienda congelarlo en alícuotas a una temperatura comprendida entre -80 °C y -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.















## Comentarios y sugerencias

---

- f) Se usó un volumen de elución inadecuado
- Determine el volumen máximo de eluido adecuado para su aplicación posterior. Reduzca o aumente el volumen de eluido añadido a la aplicación posterior en consonancia. El volumen de elución se puede adaptar proporcionalmente. La elución con volúmenes menores de tampón de elución (AVE) da lugar a mayores concentraciones de ácidos nucleicos.
- g) Arrastre de un posible inhibidor
- Asegúrese de realizar el paso de centrifugación en seco antes de la elución para prevenir la posible inhibición del ensayo anterógrado.
- Es importante usar un nuevo tubo de elución para evitar la contaminación con los restos de los tampones de lavado, lo que podría producir una inhibición del ensayo anterógrado.
- De acuerdo con los estudios de interferencia ejemplares realizados con el QIAamp DSP Virus Spin Kit y en consonancia con la norma ISO 20186-2:2019(E), la heparina de los tubos de recogida de sangre podría repercutir en la pureza de los ácidos nucleicos aislados y el posible arrastre a los eluidos podría causar inhibiciones en algunas aplicaciones anterógradas. Por tanto, se recomienda usar 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 tampón de elución (AVE) y, 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   |
|    | Consultar las instrucciones de uso   |
|    | 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   |
|   | Nota importante  |
|  | Número de lote   |
|  | Número de material (p. ej., el etiquetado de los componentes)  |
|  | Componentes  |
|  | Volumen  |
|  | Limitación de temperatura  |

## Símbolo

## Definición del símbolo



Fabricante



A su recepción



Abrir a la entrega; conservar las columnas QIAamp MinElute a 2-8 °C



Anotar la fecha actual tras añadir etanol al frasco

**ADD**

Adición

**CONT**

Contiene

**LYOPH**

Liofilizado

**RCNS**

Reconstituir en

**EtOH**

Etanol

**GuHCl**

Clorhidrato de guanidina

**MALEIC ACID**

Ácido maleico

**SUBT**

Subtilisina

**GTIN**

Número mundial de artículo comercial



Conduce a

**NUM**

Número

**Rn**

“R” es la revisión de las Instrucciones de uso y “n” es el número de revisión

## Símbolo

## Definición del símbolo

---



Mantener alejado de la luz solar



Advertencia/precaución



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 Spin Kit (50) | Para 50 preparaciones: columnas QIAamp MinElute, tampones, reactivos, tubos, VacConnectors   | 61704       |
| Productos relacionados         |  |             |
| QIAcube Connect MDx*           | Instrumento y garantía de 1 año para piezas y mano de obra   | 9003070     |
| <b>Accesorios</b>              |  |             |
| Rotor Adapters                 | Para 240 preparaciones: 240 Rotor Adapters desechables y 240 tubos de elución (1,5 ml); para usar con el instrumento QIAcube Connect MDx | 990394      |
| Rotor Adapter Holder           | Soporte para 12 adaptadores de rotor desechables; para su uso con el sistema QIAcube Connect MDx   | 990392      |
| Sample Tubes CB                | 1000 tubos (2 ml) con tapa de rosca cónicos sin base de apoyo para usar con el instrumento QIAcube Connect MDx                           | 990382      |
| Shaker Rack Plugs              | Para cargar la gradilla del agitador del instrumento QIAcube Connect MDx   | 9017854     |
| Reagent Bottles, 30 ml         | Frascos de reactivos (30 ml) con tapas; paquete de 6; para usar con el instrumento QIAcube Connect MDx                                   | 990393      |

|                                 |   |        |
|---------------------------------|---|--------|
| Filter-Tips, 1000 µl            | Puntas con filtro desechables, engradilladas; (8 x 128).<br>Para usar con el instrumento QIAcube Connect MDx  | 990352 |
| Filter-Tips, 1000 µl, wide-bore | Puntas con filtro desechables, de calibre ancho, engradilladas (8 x 128); no necesarias para todos los protocolos. Para usar con el instrumento QIAcube Connect MDx | 990452 |
| Filter-Tips, 200 µl             | Puntas con filtro desechables, engradilladas; (8 x 128). Para usar con los instrumentos QIAcube Connect MDx y QIASymphony SP/AS                                     | 990332 |

\* El instrumento QIAcube Connect MDx no está disponible en todos los países. Si desea más detalles, póngase en contacto con el servicio técnico de QIAGEN.

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](http://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"><li>● Actualización de la versión 2 del kit en cumplimiento del IVDR</li><li>● Actualización de los apartados Uso previsto y Limitaciones</li><li>● Actualización de Descripción y principio</li><li>● Actualización de Materiales suministrados (adición de principios activos) y Materiales necesarios pero no suministrados</li><li>● Actualización de Advertencias y precauciones (adición de Información para emergencias y Eliminación)</li><li>● Actualización de Almacenamiento y manipulación de reactivos</li><li>● Actualización de Recogida, almacenamiento y manipulación de las muestras</li><li>● Actualización de Notas importantes y Procedimiento</li><li>● Actualización de Características del rendimiento</li><li>● Actualización del apartado Apéndice</li><li>● Actualización de la guía para la resolución de problemas</li><li>● Actualización del apartado Símbolos</li><li>● Actualización de la información sobre pedidos</li></ul> |



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 Spin 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](http://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](http://www.qiagen.com).

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIAcube®, 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.

1127542ES 06/2022 HB-3031-001 © 2022 QIAGEN. Todos los derechos reservados.

Pedidos [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Servicio técnico [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Sitio web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)