

Diciembre 2017

Hoja de protocolo del instrumento QIASymphony[®] SP

Protocolo Cellfree500_V5_DSP

Este documento es la *hoja de protocolo del instrumento QIASymphony SP Cellfree500_V5_DSP, R2*, para el QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit, versión 1.

Información general

El QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Kit está diseñado para diagnóstico in vitro.

Kit	QIAAsymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit
Material de muestra*	Plasma, suero y líquido cefalorraquídeo (LCR)
Nombre del protocolo	Cellfree500_V5_DSP
Conjunto de controles del ensayo predeterminado	ACS_Cellfree500_V5_DSP_default_IC
Editable	Volumen de eluido: 60 µl, 85 µl, 110 µl
Versión del software requerida	Versión 4.0 o superior

Para obtener más información, consulte "Preparación del material de muestra" y "Limitaciones", página 5.

Cajón "Sample" (muestras)

Tipo de muestra	Plasma, suero y líquido cefalorraquídeo (LCR)
Volumen de muestra	Depende del tipo de tubo de muestras utilizado; para obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Tubos de muestras primarios	Para obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Tubos de muestras secundarios	Para obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Insertos	Depende del tipo de tubo de muestras utilizado; para obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks
Otro	Se requiere una mezcla de ARN transportador-tampón AVE; el uso de un control interno es opcional

Cajón "Reagents and Consumables" (reactivos y consumibles)

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

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

Cajón "Eluate" (eluidos)

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

Para obtener más información, consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks

Materiales plásticos necesarios

	Un lote, 24 muestras*	Dos lotes, 48 muestras*	Tres lotes, 72 muestras*	Cuatro lotes, 96 muestras*
Puntas con filtro desechables, 200 µl†	32	56	80	104
Puntas con filtro desechables, 1500 µl†	109	198	297	386
Cartuchos de preparación de muestras§	21	42	63	84
Cubiertas para 8 barras¶	3	6	9	12

* El uso de más de un control interno por lote y la realización de más de un examen de inventario requieren puntas con filtro desechables adicionales. 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 cubiertas para 8 barras por caja unitaria.

Nota: Los números de puntas con filtro indicados pueden diferir de los números mostrados en la pantalla táctil dependiendo de la configuración; por ejemplo, número de controles internos usados por lote.

Volumen de elución seleccionado

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

* 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-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE)

Volumen de elución seleccionado (µl)	Volumen de ARN transportador (CARRIER) de partida (µl)	Volumen de control interno (µl)*	Volumen de tampón AVE (AVE) (µl)	Volumen final por muestra (µl)
60	5	9	106	120
85	5	11,5	103,5	120
110	5	14	101	120

* El cálculo de la cantidad de control interno se basa en los volúmenes de elución iniciales. El volumen de vacío adicional depende del tipo de tubo de muestras usado; consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks para obtener más información.

Nota: Los valores mostrados en la tabla corresponden a la preparación de la mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER) para un ensayo anterógrado que requiere 0,1 µl de control interno por µl de eluido.

Los tubos que contienen la mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE) se colocan en un soporte de tubos. El soporte de tubos que contiene las mezclas de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE) debe colocarse en la ranura A del cajón de muestras.

Según el número de muestras que vayan a procesarse, recomendamos utilizar tubos de 2 ml (Sarstedt, n.º de cat. 72.693 y 72.694) o tubos de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml de 17 x 100 mm (Becton Dickinson, n.º de cat. 352051) para diluir el control interno, según se describe en la tabla siguiente. El volumen se puede dividir en 2 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 la mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE) por tubo
Microtubo de 2 ml con tapón; microtubo de 2 ml, PP, con base de apoyo, (Sarstedt, n.º de cat. 72.694)	SAR#72.694 T2.0 ScrewSkirt	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Microtubo de 2 ml con tapón; microtubo de 2 ml, PP, sin base de apoyo, (Sarstedt, n.º de cat. 72.693)	SAR#72.693 T2.0 Screw	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l}^*$
Tubo de poliestireno de fondo redondeado de 14 ml, 17 x 100 mm (Becton Dickinson, n.º de cat. 352051)	BD#352051 FalconPP 17x100	$(n \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l}^\dagger$

* Utilice esta ecuación para calcular el volumen necesario de mezcla de control interno (n = número de muestras; $120 \mu\text{l}$ = volumen de mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE); $360 \mu\text{l}$ = volumen de vacío necesario por tubo). Por ejemplo, para 12 muestras ($n = 12$): $(12 \times 120 \mu\text{l}) + 360 \mu\text{l} = 1800 \mu\text{l}$. No llene el tubo con más de 1,9 ml (es decir, un máximo de 12 muestras por tubo). Si se van a procesar más de 12 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-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE) (n = número de muestras; $120 \mu\text{l}$ = volumen de mezcla de control interno-ARN transportador (CARRIER)-tampón AVE (AVE); $600 \mu\text{l}$ = volumen de vacío necesario por tubo). Por ejemplo, para 96 muestras ($n = 96$): $(96 \times 120 \mu\text{l}) + 600 \mu\text{l} = 12120 \mu\text{l}$.

Consulte www.qiagen.com/goto/dsphandbooks para obtener información sobre los insertos necesarios.

Preparación del material de muestra

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

Plasma, suero y muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR)

El procedimiento de purificación está optimizado para su uso con plasma, suero o muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR). 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. Una vez obtenido y centrifugado, el plasma, suero o LCR puede conservarse a $2-8^\circ\text{C}$ hasta seis horas. Para períodos de conservación más largos, recomendamos congelar partes alícuotas a -20°C o -80°C . El plasma o el suero congelado no deben descongelarse más de una vez. La congelación y descongelación repetidas desnaturaliza y precipita las proteínas, lo que da lugar a una posible disminución de los títulos víricos y, por consiguiente, de la cantidad de ácidos nucleicos víricos. Si en las muestras se aprecian crioprecipitados, centrifugue a $6800 \times g$ durante 3 minutos, transfiera

los sobrenadantes a tubos nuevos sin alterar los sedimentos e inicie el procedimiento de purificación de inmediato. El centrifugado a fuerzas *g* bajas no reduce los títulos víricos.

Limitaciones

Las muestras de sangre tratadas con un activador de la coagulación sérica pueden dar lugar a una disminución de la obtención de ácidos nucleicos virales. No utilice tubos para recogida de sangre Bio-One® VACUETTE® de Greiner que contengan activador de la coagulación sérica Z.

Historial de revisiones

Historial de revisiones del documento	
R2 12/2017	Actualización del software QIASymphony versión 5.0

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

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony® (QIAGEN Group); BD™ (Becton Dickinson and Company); Falcon® (Corning, Inc.); Bio-One®, VACUETTE® (Greiner Bio-One GmbH); Sarstedt® (Sarstedt AG and Co.). 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. 12/2017 HB-0301-S34-002 © 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

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