

Agosto de 2015

Manual de instrucciones de uso de QIASymphony[®] DSP DNA



192 (n.º de catálogo 937236)



96 (n.º de catálogo. 937255)

Versión 1



Para uso diagnóstico *in vitro*

QIASymphony DSP DNA Mini Kit

QIASymphony DSP DNA Midi Kit



937236, 937255



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden ALEMANIA

R4  1069185ES



Contenido

Uso previsto	3
Resumen y explicación	3
Principios del procedimiento	4
Materiales suministrados	7
Contenido del kit	7
Materiales necesarios no suministrados	7
Advertencias y precauciones.....	8
Conservación y manipulación de los reactivos	12
Componentes del kit	13
Recogida y preparación de las muestras	14
Procedimiento	14
Purificación automatizada en el instrumento QIAasymphony SP	14
Protocolo: Purificación de ADN	23
Control de calidad.....	26
Limitaciones	26
Símbolos	27
Guía para la resolución de problemas	29
Apéndice: Cuantificación y determinación de la pureza del ADN	32
Cuantificación del ADN	32
Pureza del ADN	33
Información para pedidos.....	34

Uso previsto

El kit QIASymphony® DSP DNA Mini y el kit QIASymphony DSP DNA Midi utilizan tecnología de partículas magnéticas para el aislamiento y la purificación automatizados de ADN a partir de muestras biológicas.

Los productos están destinados a ser utilizados por usuarios profesionales, como técnicos y médicos que hayan recibido formación en técnicas de biología molecular.

El sistema QIASymphony DSP DNA se ha diseñado para uso diagnóstico *in vitro*.

Resumen y explicación

Los kits QIASymphony DSP DNA se han diseñado para utilizarse exclusivamente en combinación con el instrumento QIASymphony SP. Los kits QIASymphony DSP DNA proporcionan reactivos para la purificación completamente automatizada y simultánea de ADN total a partir de sangre humana, capa leucocítica, tejidos y tejidos fijados en formol e incluidos en parafina (FFIP), así como de ADN viral a partir de sangre humana. No obstante, no se han determinado las características de rendimiento para cada virus, tejido o tejido FFIP y estas deben ser validadas por el usuario. La tecnología de partículas magnéticas permite purificar ácidos nucleicos de alta calidad que carecen de proteínas, nucleasas y otras impurezas. Los ácidos nucleicos purificados están listos para un uso directo en aplicaciones posteriores, como la amplificación u otras reacciones enzimáticas. El instrumento QIASymphony SP realiza todos los pasos del procedimiento de purificación. En una sola ejecución se procesan hasta 96 muestras, en lotes de 24. Los protocolos para tejidos y tejidos FFIP requieren un pretratamiento manual de las muestras.

Principios del procedimiento

La tecnología QIASymphony combina la velocidad y la eficiencia de la purificación de ácidos nucleicos basada en el sílice con la cómoda manipulación de las partículas magnéticas (Figura 1, a continuación). El procedimiento de purificación está diseñado para garantizar una manipulación segura y reproducible de muestras potencialmente infecciosas, y comprende 4 pasos: lisis, unión, lavado y elución (consulte el organigrama de la página 6). El usuario puede elegir entre distintos volúmenes de elución.

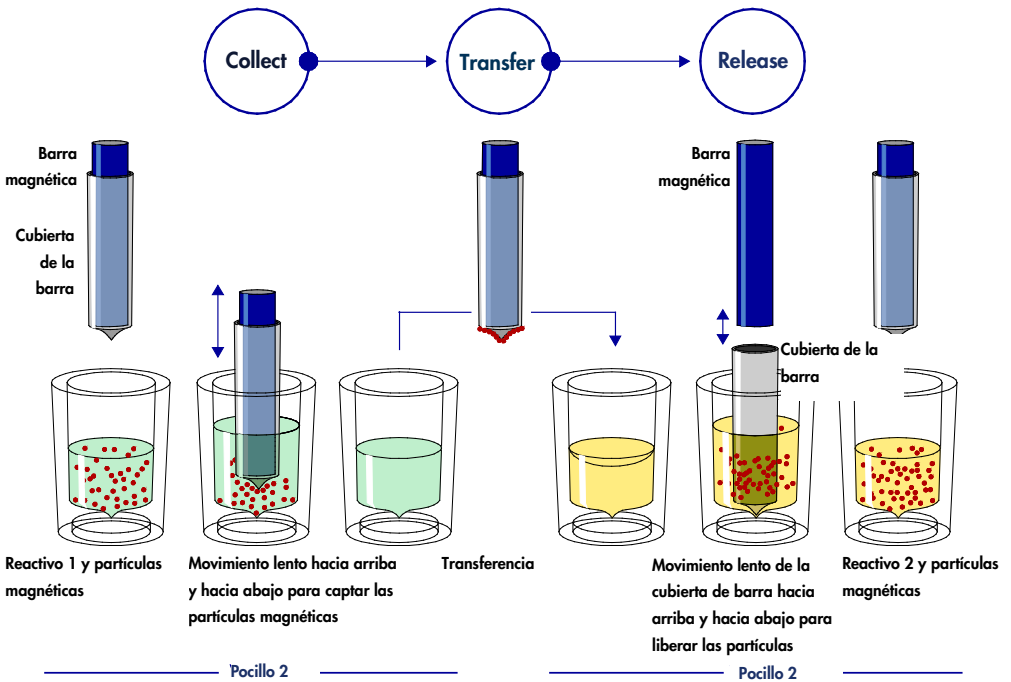
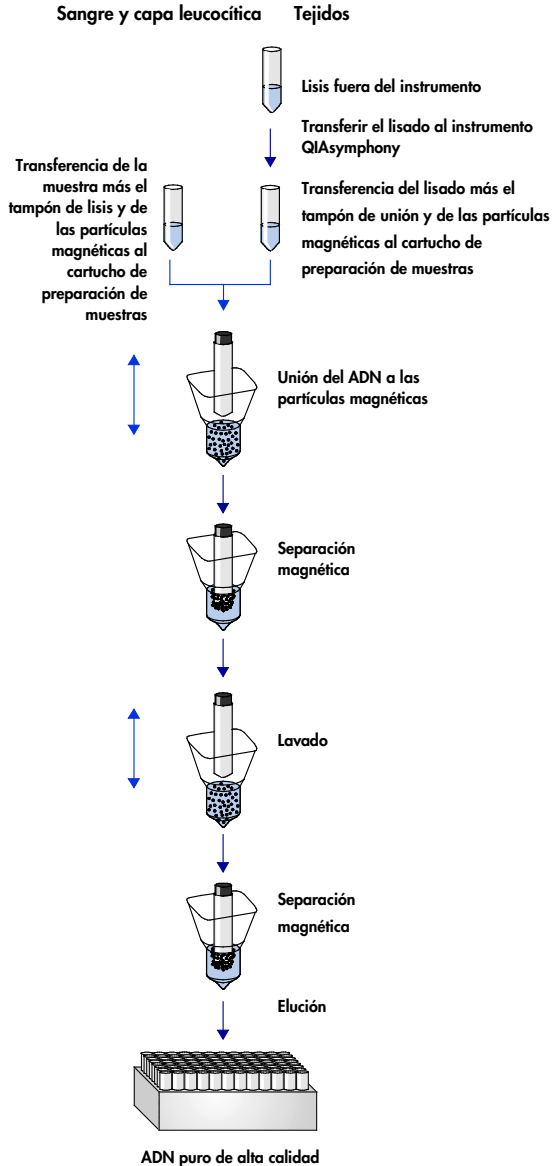


Figura 1. Esquema del principio del instrumento QIASymphony SP. El instrumento QIASymphony SP procesa una muestra que contiene partículas magnéticas de la forma siguiente: una barra magnética protegida por una cubierta entra en un pocillo que contiene la muestra y atrae las partículas magnéticas. La cubierta de la barra magnética se sitúa encima de otro pocillo y se liberan las partículas magnéticas. El instrumento QIASymphony SP utiliza una cabeza

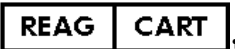

magnética que contiene una matriz de 24 barras magnéticas, de modo que puede procesar simultáneamente un máximo de 24 muestras. Los pasos 1 y 2 se repiten varias veces durante el procesamiento de las muestras.

Procedimiento QIASymphony DSP



Materiales suministrados

Contenido del kit

QIAasymphony DSP DNA Kit		Mini	Midi
N.º de catálogo		937236	937255
Número de preparaciones		192	96*
RC	Reagent Cartridge (Cartucho de reactivos)†	 2	2
ER	Enzyme Rack (Gradilla de enzimas)	2	2
PL	Piercing Lid (Tapa de perforación)	2	2
ATE	Buffer ATE (Tampón ATE) (20 ml) ‡	 20 ml	20 ml
RSS	Reuse Seal Set (Juego de sellado para reutilización)§	2	2
	Handbook (Manual)	1	1

* Para 96 preparaciones de 1.000 µl o 144 preparaciones de 400 µl.

† Contiene sales de guanidina. No es compatible con desinfectantes que contengan lejía. Consulte la página 9 si desea obtener información relativa a la seguridad.

‡ Contiene azida sódica como conservante.[¶] En la página **Fehler! Textmarke nicht definiert.** se presenta una lista de símbolos con las definiciones correspondientes.

Materiales necesarios no suministrados

Siempre que trabaje con productos químicos utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las fichas

de datos de seguridad (SDS, safety data sheets) correspondientes que el proveedor del producto pone a su disposición.

- QIASymphony SP
 - Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (cat. no. 997002)
 - -Rod Covers (Cubiertas para 8 barras) (n.º de catálogo 997004).
 - Filter-Tips (Puntas con filtro), 200 µl y 1.500 µl (n.º de catálogo 990332 y 997024).
 - Tubos de muestra (p. ej., tubos de muestra de 2 ml de Sarstedt con tapas de rosca [n.º de catálogo 72.693] o sin tapas de rosca [n.º de catálogo 72.608] o Sarstedt [n.º de catálogo 72.694]). Los formatos compatibles de tubos primarios y secundarios se indican en www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
 - Tubos o placas de elución. Los formatos compatibles de tubos y placas de elución se indican en www.qiagen.com/goto/dspdnakits.
 - Solución salina tamponada con fosfato (PBS; puede ser necesaria para diluir las muestras).
 - Agitadora vorticial.
- Opcional: RNasa A libre de DNasa (para reducir al mínimo del contenido de ARN)
- Para obtener información sobre los materiales necesarios para las aplicaciones de tejidos y sangre con virus, consulte las hojas de protocolo en www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*

Lea atentamente todas las instrucciones antes de utilizar el kit.

Siempre que trabaje con productos químicos utilice una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Si desea obtener más información, consulte las

fichas de datos de seguridad (SDS) correspondientes. Dichas fichas están disponibles online en un formato PDF cómodo y compacto en www.qiagen.com/safety, donde podrá encontrar, ver e imprimir la ficha de datos de seguridad de los materiales correspondiente a cada kit y a cada componente del kit QIAGEN®.



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

Los tampones presentes en el cartucho de reactivos (RC) contienen sales de guanidina, que pueden formar compuestos de alta reactividad al combinarse con lejía. Si se derrama el líquido que contienen estos tampones, límpielo con detergente de laboratorio adecuado y agua. Si el líquido derramado contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie el área afectada primero con detergente de laboratorio y agua y, a continuación, con hipoclorito sódico al 1% (v/v).

Las siguientes indicaciones de riesgo y advertencia hacen referencia a los componentes del kit QIASymphony DSP DNA:

QSB1



Contiene: Brij 58; guanidine thiocyanate; Isopropanol. Peligro! Puede ser nocivo si se ingiere o por contacto con la piel. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar somnolencia o vértigo. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. Líquido y vapores muy inflamables. En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada. 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 CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACION TOXICOLOGICA o a un médico. Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar. Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener el recipiente cerrado herméticamente. Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.

MBS

Atención! Provoca una leve irritación cutánea. En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.

Proteinase K



Contiene: Proteinase K. Peligro! Provoca una leve irritación cutánea. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. Evitar respirar el polvo/ el humo/ el gas/ la niebla/ los vapores/ el aerosol. Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada. En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. EN CASO DE INHALACIÓN: Si respira con dificultad, transportar a la víctima al exterior y mantenerla en reposo en una posición confortable para respirar. Llevar equipo de protección respiratoria.

QSL1



Contiene: guanidine hydrochloride; maleic acid. Atención! Puede ser nocivo si se ingiere o si se inhala. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico. Quítese la ropa contaminada y lávela antes de volver a usarla. Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.

QSW1



Contiene: ethanol; guanidine hydrochloride; lithium chloride. Atención! Puede ser nocivo en casa de ingestión. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Líquidos y vapores inflamables. Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico. Quítese la ropa contaminada y lávela antes de volver a usarla. Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar. Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco. Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.

QSW2



Contiene: ethanol. Peligro! Provoca irritación ocular grave. Líquido y vapores muy inflamables. Eliminar el contenido/ el recipiente en una planta de eliminación de residuos aprobada. Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico. Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. - No fumar. Almacenar en un lugar bien ventilado. Mantener en lugar fresco. Llevar guantes/ prendas/ gafas/ máscara de protección.

Conservación y manipulación de los reactivos

Los kits QIASymphony DSP DNA deben conservarse en posición vertical a temperatura ambiente (15–25 °C). Las partículas magnéticas de los cartuchos de reactivo (RC) conservan su actividad cuando se conservan a dicha temperatura. Cuando se conserva en las condiciones correctas, el kit es estable hasta la fecha de caducidad que figura en su caja.

Nota: En la etiqueta de la caja de los kits QIAasymphony DSP DNA figura la fecha de caducidad del kit. El archivo de resultados documenta las fechas de caducidad únicamente para el cartucho de reactivos (RC).

Componentes del kit

Los kits QIAasymphony DSP DNA contienen solución de proteinasa K lista para usar que puede conservarse a temperatura ambiente.

No conserve los cartuchos de reactivos (RC) a temperaturas inferiores a 15 °C.

Los cartuchos de reactivos (RC) parcialmente usados pueden almacenarse durante un máximo de 4 semanas, lo que permite una reutilización rentable de los reactivos y un procesamiento de muestras más flexible. Si utiliza parcialmente un cartucho de reactivos (RC), vuelva a colocar la cubierta del recipiente que contiene las partículas magnéticas y selle el cartucho de reactivos (RC) con las tiras de sellado para reutilización suministradas inmediatamente después de finalizar la ejecución del protocolo para evitar la evaporación.

Para evitar la evaporación de los reactivos, el cartucho de reactivos (RC) debe estar abierto durante un máximo de 15 horas (incluidos los tiempos de ejecución) a una temperatura ambiente máxima de 30 °C.

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

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

Recogida y preparación de las muestras

Evite la formación de espuma en el interior o en la superficie de las muestras. Dependiendo del material de partida, es posible que sea necesario realizar un pretratamiento de la muestra.

Las muestras deben equilibrarse a temperatura ambiente (15–25 °C) antes de comenzar la ejecución.

Si desea obtener más información sobre el procedimiento automatizado (incluida información sobre los tubos de muestras que pueden utilizarse con protocolos específicos) y sobre los pretratamientos para muestras específicas, consulte la hoja de protocolo correspondiente, disponible en www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Procedimiento

Purificación automatizada en el instrumento QIASymphony SP

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

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

La gama de protocolos disponibles se encuentra en continua expansión, y pueden descargarse de forma gratuita protocolos adicionales de QIAGEN en www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

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

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

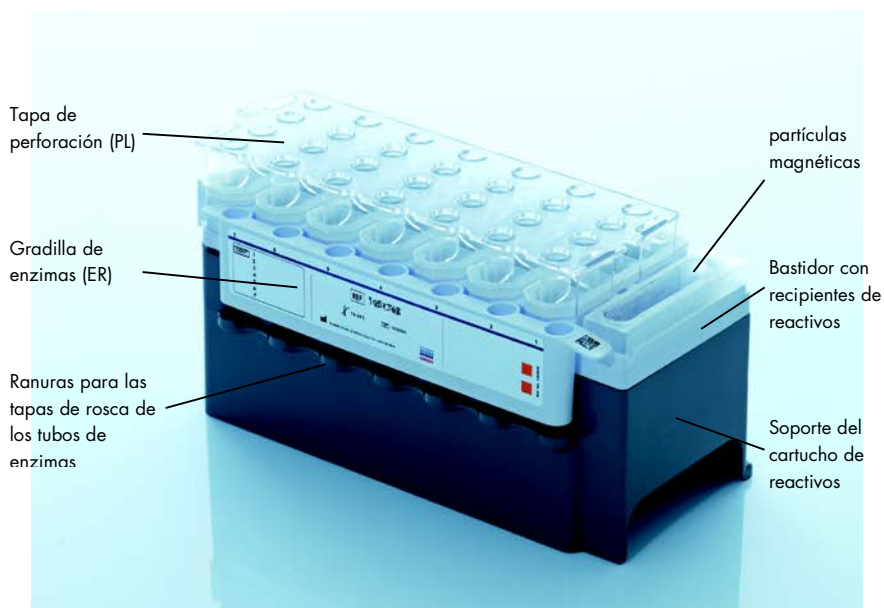


Figura 2. Cartucho de reactivos (RC) del sistema QIASymphony. El cartucho de reactivos (RC) contiene todos los reactivos necesarios para la ejecución del protocolo.

Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas estén totalmente resuspendidas. Retire el recipiente de partículas magnéticas del bastidor del cartucho de reactivos, mézclelo vigorosamente mediante agitación vorticial durante al menos 3 minutos y vuelva a colocarlo en el bastidor del cartucho de reactivos antes del primer uso. Coloque el cartucho de reactivos (RC) en el soporte del cartucho de reactivos. Coloque la gradilla de enzimas (ER) en el soporte del cartucho de reactivos. Antes de utilizar un cartucho de reactivos (RC) por primera vez, coloque la tapa de perforación (PL) encima del cartucho de reactivos (RC) (figura 2 arriba).

Nota: La tapa de perforación (PL) está afilada. Tenga cuidado al colocarla en el cartucho de reactivos (RC). Asegúrese de situar la tapa de perforación (PL) correctamente orientada en el cartucho de reactivos (RC).

Una vez que se haya retirado la cubierta del recipiente de partículas magnéticas y que se hayan abierto los tubos de la gradilla de enzimas (las tapas de rosca pueden guardarse en ranuras dedicadas, véase la figura 2 más arriba), el cartucho de reactivos (RC) se carga en el cajón "Reagents and Consumables".

Los cartuchos de reactivos (RC) parcialmente usados pueden almacenarse hasta que vuelvan a necesitarse (consulte "Conservación y manipulación de los reactivos" en la página 12).

Carga del material de plástico en el cajón "Reagents and Consumables"

Se carga en el cajón "Reagents and Consumables" el siguiente material: cartuchos de preparación de muestras, cubiertas para 8 barras (ambos preengradillados en cajas unitarias) y puntas con filtro desechables (puntas de 200 µl suministradas en gradillas azules, puntas de 1.500 µl suministradas en gradillas grises).

Nota: Asegúrese de retirar las cubiertas de las cajas unitarias antes de cargar las cajas unitarias en el cajón “Reagents and Consumables”.

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

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

Nota: No vuelva a llenar las gradillas de puntas ni las cajas unitarias para los cartuchos de preparación de muestras o las cubiertas para 8 barras antes de iniciar otra ejecución del protocolo. El sistema QIASymphony SP puede utilizar cajas unitarias y gradillas de puntas parcialmente usadas.

Si desea obtener información sobre los consumibles necesarios, consulte la hoja de protocolo correspondiente en www.qiagen.com/goto/dspdnakits. Si desea obtener información para pedidos de material de plástico, consulte la página 34.

Carga del cajón “Waste” (desechos)

Los cartuchos de preparación de muestras y las cubiertas para 8 barras utilizadas durante una ejecución se vuelven a engradillar en cajas unitarias vacías en el cajón “Waste”. Asegúrese de que el cajón “Waste” contenga suficientes cajas unitarias vacías para el material de plástico generado durante la ejecución del protocolo.

Nota: Asegúrese de retirar las cubiertas de las cajas unitarias antes de cargar las cajas unitarias en el cajón “Waste”. Si utiliza cajas de cubiertas para 8 barras para la recogida de cubiertas para 8 barras y de cartuchos de preparación de muestras usados, asegúrese de haber retirado el espaciador de cajas.

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

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

Un recipiente para desechos recoge los desechos líquidos generados durante el proceso de purificación. El cajón "Waste" solo puede cerrarse si el recipiente para desechos está colocado en su posición. Elimine los desechos líquidos de conformidad con la normativa local correspondiente sobre seguridad y medio ambiente. No esterilice en autoclave el frasco de desechos lleno. Vacíe el frasco de desechos después de procesar un máximo de 96 muestras.

Carga del cajón "Eluate"

Load the required elution rack into the "Eluate" drawer. Dado que el almacenamiento a largo plazo de eluidos en el cajón "Eluate" puede dar lugar a la evaporación de los eluidos, recomendamos encarecidamente utilizar la posición de refrigeración: utilice exclusivamente la ranura "Elution slot 1" (Ranura de elución 1) con el adaptador de refrigeración correspondiente.

Examen de inventario

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

Preparación del material de muestra

Los kits QIAasymphony DSP DNA están diseñados para la purificación automatizada de ADN total a partir de sangre humana, capa leucocítica, tejidos y tejidos fijados en formol e incluidos en parafina (FFIP), así como de ADN viral a partir de sangre humana (tabla 1, página 21).

Evite la formación de espuma en el interior o en la superficie de las muestras. Dependiendo del material de partida, es posible que sea necesario realizar un pretratamiento de la muestra. Las muestras deben equilibrarse a temperatura ambiente (15–25 °C) antes de comenzar la ejecución. Los protocolos para tejidos y tejidos FFIP requieren un pretratamiento manual de las muestras.

Si desea obtener más información sobre el procedimiento automatizado (incluida información sobre los tubos de muestras que pueden utilizarse con protocolos específicos) y sobre los pretratamientos para muestras específicas, consulte la hoja de protocolo correspondiente, disponible en www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Producción de ADN purificado

La producción de ADN depende de los siguientes factores: tipo de muestra, número de células nucleadas presentes en la muestra, calidad del material de partida y protocolo utilizado para el aislamiento del ADN. La elución en volúmenes más pequeños aumenta la concentración final de ADN en el eluido, pero reduce ligeramente la producción total de ADN. Recomendamos utilizar un volumen de elución apropiado para la aplicación posterior prevista. Los kits QIAasymphony DSP DNA purifican conjuntamente ARN y ADN si ambos están presentes en la muestra. Para reducir al mínimo el contenido de ARN de la muestra, añada RNasa A a la muestra en el paso indicado en el protocolo de pretratamiento correspondiente. Si desea obtener más información, consulte las hojas de protocolo en www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

Conservación del ADN

El ADN purificado puede conservarse a una temperatura de 2–8 °C durante un máximo de 5 días. Para períodos de conservación más largos, debe conservarse a una temperatura de –20 °C o –80 °C.

Tabla 1. Resumen del protocolo

Muestra	Volumen de muestra (µl)	Volumen de elución (µl)	Kit	Protocolo del instrumento QIASymphony SP
Sangre	200	50, 100, 200	Mini	Blood 200 DSP
	400	100, 200, 400	Midi	Blood 400 DSP
	1000	200, 400, 500	Midi	Blood 1000 DSP
Capa leucocítica	200	200, 300, 400	Mini	DNA Buffy Coat 200 DSP
	400	200, 400	Midi	DNA Buffy Coat 400 DSP
Sangre con virus	200	60, 85, 110, 165	Mini	VirusBlood200 DSP
Tejido	200	50, 100, 200,400	Mini	Tissue LC 200 DSP
	200	100, 200, 400	Mini	Tissue HC 200 DSP

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Asegúrese de estar familiarizado con el funcionamiento del instrumento QIASymphony SP. Consulte los manuales del usuario suministrados con su instrumento para informarse sobre las instrucciones de funcionamiento.
- El mantenimiento opcional no es obligatorio para el funcionamiento del instrumento, pero es muy recomendable para reducir el riesgo de contaminación.
- Antes de comenzar el procedimiento, lea el apartado “Principios del procedimiento” a partir de la página 4.
- Asegúrese de estar familiarizado con la hoja de protocolo correspondiente al procedimiento que desea utilizar (www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- Antes de usar un cartucho de reactivos por primera vez, compruebe que los tampones QSL1 y QSB1 no contengan un precipitado. En caso necesario, retire del cartucho de reactivos los recipientes que contienen los tampones QSL1 y QSB1 e incúbelos durante 30 minutos a 37 °C con agitación ocasional para disolver el precipitado. Asegúrese de volver a colocar los recipientes en las posiciones correctas. Si el cartucho de reactivos ya está perforado, asegúrese de que los recipientes estén sellados con las tiras de

sellado para reutilización e incube el cartucho de reactivos completo durante 30 minutos a 37 °C con agitación ocasional en un baño María.

- Intente evitar la agitación vigorosa del cartucho de reactivos (RC), ya que podría generarse espuma, que puede provocar problemas para detectar el nivel de líquido.

Antes de comenzar

- Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas estén totalmente resuspendidas. Mezcle vigorosamente mediante agitación vorticial el recipiente que contiene las partículas magnéticas durante al menos 3 minutos antes del primer uso.
- Asegúrese de que la tapa de perforación esté colocada sobre el cartucho de reactivos y de que la tapa del recipiente de partículas magnéticas se haya retirado o, si se está utilizando un cartucho de reactivos parcialmente usado, asegúrese de que se hayan retirado las tiras de sellado para reutilización.
- Asegúrese de abrir los tubos de enzimas.
- Si las muestras tienen un código de barras, oriéntelas en el portatubos de forma que los códigos de barras miren hacia el lector de código de barras situado en el lado izquierdo del instrumento QIASymphony SP.
- Si desea obtener información acerca de los tubos de muestras compatibles con un determinado protocolo, consulte la lista de material de laboratorio correspondiente (disponible en www.qiagen.com/goto/dspdnakits).
- Si desea obtener información acerca de los volúmenes de muestra mínimos para muestras en los tubos primarios y secundarios de un protocolo determinado, consulte la lista de material de laboratorio correspondiente (disponible en www.qiagen.com/goto/dspdnakits). Esta información también indica qué tubos pueden utilizarse para los distintos protocolos.

Protocolo: Purificación de ADN

El siguiente es un protocolo general para los kits QIASymphony DSP DNA. La información detallada sobre cada protocolo, incluidos los volúmenes y los tubos, se proporciona en las hojas de protocolo, que pueden descargarse en www.qiagen.com/goto/dspdnakits.

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

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

3. Inicie una sesión en el instrumento.
4. Asegúrese de que el cajón "Waste" esté correctamente preparado, y realice un examen de inventario de dicho cajón, incluidos el conducto para puntas y el recipiente para desechos líquidos. Sustituya la bolsa de desecho de puntas en caso necesario.
5. Cargue la gradilla de elución requerida en el cajón "Eluate".

No cargue una placa de 96 pocillos en la ranura "Elution slot 4" (ranura de elución 4). Debe utilizarse la ranura de elución 1, con el adaptador de refrigeración correspondiente.

Cuando utilice una placa de 96 pocillos, asegúrese de que la placa esté correctamente orientada, ya que una colocación incorrecta puede provocar una confusión de muestras en el análisis posterior

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

6. Cargue los cartuchos de reactivo y los consumibles requeridos en el cajón "Reagents and Consumables".
7. Realice un examen de inventario del cajón "Reagents and Consumables".

8. Coloque las muestras en el soporte para muestras adecuado, y cárguelas en el cajón "Sample" (muestras).

IMPORTANTE: Para las aplicaciones VirusBlood200, los tubos que contienen la mezcla de control interno-tampón ATE deben colocarse en la ranura A del cajón "Muestras".

Si desea obtener más información acerca de la preparación de la mezcla y el uso de un control interno, consulte la hoja de protocolo correspondiente (disponible en www.qiagen.com/goto/dspdnakits).

9. Mediante la pantalla táctil, introduzca la información requerida para cada lote de muestras que se vaya a procesar.

Introduzca la siguiente información:

Información de la muestra (dependiendo de las gradillas de muestras utilizadas).

Protocolo que se vaya a ejecutar ("Assay Control Set" [Juego de controles del ensayo]).

Volumen de elución y posición de salida.

Para las aplicaciones VirusBlood200: tubo(s) con control(es) interno(s)

10. Una vez introducida la información sobre el lote, el estado cambia de "LOADED" (CARGADO) a "QUEUED" (EN COLA). Tan pronto como un lote está en cola aparece el botón "Run" (Ejecutar). Press the **Run** button to start the purification procedure.

All processing steps are fully automated. At the end of the protocol run, the status of the batch changes from **RUNNING** to **COMPLETED**.

11. Retire la gradilla de elución que contiene los ácidos nucleicos purificados del cajón "Eluate".

12. El DNA está listo para usar o puede conservarse a 2–8 °C, –20 °C o –80 °C.

Recomendamos retirar la placa de eluidos del cajón "Eluate" nada más finalizar el procesamiento. Dependiendo de la temperatura y de la humedad, las placas de elución dejadas en el instrumento QIASymphony SP una vez finalizada la ejecución pueden experimentar condensación o evaporación.

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

Si es necesario retirar las partículas magnéticas antes de realizar las aplicaciones posteriores, en primer lugar los tubos o las placas que contienen los eluidos deben colocarse en un imán adecuado y, a continuación, los eluidos deben transferirse a un tubo limpio (consulte el apéndice en la página 32).

Se generan archivos de resultados para cada placa de elución.

13. Si utiliza un cartucho de reactivos solo parcialmente, séllelo con las tiras de sellado para reutilización suministradas y cierre los tubos que contienen proteínasa K con tapas de rosca inmediatamente después de finalizar la ejecución del protocolo para evitar la evaporación.

Nota: Si desea obtener más información acerca de la conservación de cartuchos de reactivos (RC) parcialmente usados, consulte el apartado “Conservación y manipulación de los reactivos” en la página 12.

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

Consulte la página **Fehler! Textmarke nicht definiert.** si desea obtener información relativa a la seguridad.

15. Limpie el instrumento QIASymphony SP.

Siga las instrucciones de mantenimiento de los manuales del usuario suministrados con su instrumento. Asegúrese de limpiar los protectores de puntas con regularidad para reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada.

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

Control de calidad

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

Limitaciones

Se ha determinado el rendimiento del sistema en estudios de evaluación del rendimiento para la purificación de ADN total a partir de sangre humana, capa leucocítica, tejidos y tejidos fijados en formol e incluidos en parafina (FFIP), así como de ADN viral a partir de sangre humana.













Es responsabilidad del usuario validar el rendimiento del sistema para cualquier procedimiento utilizado en su laboratorio que no esté cubierto por los estudios de evaluación del rendimiento de QIAGEN.




Para reducir al mínimo el riesgo de un efecto negativo sobre los resultados diagnósticos, deben utilizarse controles adecuados para las aplicaciones posteriores. Para validaciones adicionales se recomiendan las directrices de la International Conference on Harmonization of Technical Requirements (ICH) detalladas en *ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*.

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

Símbolos

En estas instrucciones de uso se utilizan los símbolos mostrados en la tabla siguiente.

Símbolo	Definición del símbolo
 <N>	Contiene suficientes reactivos para <N> preparaciones de muestras
	Fecha de caducidad
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Número de catálogo
	Número de lote
	Número de material
	Componentes
	Número
Rn	R es la revisión del Manual de instrucciones de uso, y n es el número de revisión
	Volumen
	Limitación de temperatura
	Fabricante
	Solo para utilizar con

Símbolo	Definición del símbolo
EC REP	Consultar instrucciones de uso
	Contiene
CONT	Número de pocillo
WELL	Isopropanol
REAG CART	Proteinasa K
ELU BUF	Tiocianato de guanidinio
IPA	Clorhidrato de guanidina
PROTK	Etanol
GITC	Acido maleico
GuHCL	BRIJ 58
EtOH	Cloruro de litio
MALEIC ACID	Número mundial de artículo comercial
BRIJ 58	
LiCl	Precaución
GTIN	Borde afilado
	Volumen
	Limitación de temperatura

Guía para la resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas le será de utilidad para resolver los problemas que puedan surgir. Para obtener más información, consulte también la página de preguntas frecuentes (*Frequently Asked Questions*, FAQ) de nuestro centro de soporte técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Los científicos del Servicio Técnico de QIAGEN estarán siempre encantados de responder a cualquier pregunta que tenga sobre la información o los protocolos de este manual, así como sobre las tecnologías para el tratamiento de muestras y ensayos de biología molecular (encontrará la información de contacto en la contraportada o en www.qiagen.com).

Comentarios y sugerencias

Manipulación general

Aparece un mensaje de error en la pantalla táctil

Si aparece un mensaje de error durante la ejecución de un protocolo, consulte los manuales del usuario suministrados con su instrumento.

Precipitado en el recipiente de reactivos de un cartucho abierto

a) Evaporación de tampón

Un exceso de evaporación puede provocar un aumento de la concentración de sal en los tampones. Deseche el cartucho de reactivos (RC). Asegúrese de sellar los recipientes de tampón de un cartucho de reactivos (RC) parcialmente usado con las tiras de sellado para reutilización cuando no se estén utilizando para la purificación.

b) Conservación del cartucho de reactivos (RC)

La conservación del cartucho de reactivos (RC) a una temperatura inferior a 15 °C puede causar la formación de precipitados. En caso necesario, retire del cartucho de reactivos (RC) los recipientes que contienen los tampones QSL1 y QSB1 e incúbelos en un baño María* a 37 °C durante 30 minutos con agitación ocasional para disolver el precipitado. Asegúrese de volver a colocar el recipiente en la posición correcta. Si el cartucho de reactivos (RC) ya está perforado, asegúrese de volver a cerrar el recipiente con una tira de sellado para reutilización e incube el cartucho de reactivos (RC) completo en un baño María* a 37 °C durante 30 minutos con agitación ocasional.

Producción baja de ADN

* Asegúrese de que todos los instrumentos se hayan verificado, sometido a mantenimiento y calibrado con regularidad según las instrucciones del fabricante.

Comentarios y sugerencias

- | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Las partículas magnéticas no se resuspendieron completamente | Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas estén totalmente resuspendidas. Mezcle mediante agitación vorticial durante al menos 3 minutos antes del uso. |
| b) Las muestras de sangre o capa leucocítica congeladas no se mezclaron correctamente después de la descongelación | Descongele las muestras de sangre o capa leucocítica congeladas con agitación suave para garantizar una mezcla minuciosa. |
| c) Lisis incompleta de la muestra | Antes del uso, compruebe que los tampones Buffer QSL1 y QSB1 no contengan precipitados.. En caso necesario, retire del cartucho de reactivos (RC) los recipientes que contienen los tampones QSL1 y QSB1 e incúbelos en un baño María* a 37 °C durante 30 minutos agitando de vez en cuando para disolver el precipitado. Si el cartucho de reactivos (RC) ya está perforado, asegúrese de que los recipientes estén sellados con las tiras de sellado para reutilización e incube el cartucho de reactivos (RC) completo durante 30 minutos a 37 °C con agitación ocasional en un baño María*. |
| d) Digestión incompleta de muestras de tejidos | Asegúrese de que el tejido está completamente digerido prolongando el tiempo de incubación con proteinasa K. |
| e) Atasco de la punta de pipeta debido a material insoluble | No se eliminó de la muestra el material insoluble antes de comenzar el procedimiento de purificación con el instrumento QIAsymphony. En caso necesario, utilice los procedimientos de pretratamiento descritos en las hojas de protocolo correspondientes, por ejemplo, para materiales de muestra viscosos. Las hojas de protocolo están disponibles en www.qiagen.com/goto/dspdnakits . |
| f) Preparación incorrecta de la capa leucocítica al utilizar el protocolo para capa leucocítica | Asegúrese de que la fracción leucocítica se obtiene de manera eficiente. |
| g) Recuento bajo de leucocitos en la muestra de sangre utilizada como material de partida para la preparación de la capa leucocítica | Si se utiliza el protocolo para capa leucocítica, aumente el volumen de sangre utilizado y mantenga constante el volumen de leucocitos obtenido. |
| h) Lisis incompleta de tejidos | Si el lisado contiene material insoluble, prolongue el tiempo de incubación con proteinasa K. |

* Asegúrese de que todos los instrumentos se hayan verificado, sometido a mantenimiento y calibrado con regularidad según las instrucciones del fabricante.

Comentarios y sugerencias

- i) Se ha perdido el sedimento durante el pretratamiento de los tejidos FFIP con xileno/etanol
- Observe detenidamente las muestras durante el pretratamiento.

El ADN no tiene buen rendimiento en las aplicaciones posteriores

- a) Se ha utilizado una cantidad insuficiente de ADN en una aplicación posterior
- Cuantifique el ADN purificado mediante medición espectrofotométrica de la absorbancia a 260 nm (consulte el apéndice, página 32)*.
- b) Se ha utilizado una cantidad excesiva de ADN en una aplicación posterior
- El exceso de ADN puede inhibir algunas reacciones enzimáticas. Cuantifique el ADN purificado mediante medición espectrofotométrica de la absorbancia a 260 nm (consulte el apéndice, página 32)*.

El cociente A_{260}/A_{280} para el ADN purificado es bajo

No se ha restado la lectura de absorbancia a 320 nm de las lecturas de absorbancia a 260 nm y 280 nm

Para realizar una corrección por la presencia de partículas magnéticas en el eluido, debe obtenerse una lectura de absorbancia a 320 nm y restarse de las lecturas de absorbancia obtenidas a 260 nm y 280 nm (consulte el apéndice, página 32)*.

* Asegúrese de que todos los instrumentos se hayan verificado, sometido a mantenimiento y calibrado con regularidad según las instrucciones del fabricante.

Apéndice: Cuantificación y determinación de la pureza del ADN

Cuantificación del ADN

La concentración de ADN debe determinarse midiendo la absorbancia a 260 nm (A_{260}) en un espectrofotómetro. Las lecturas de absorbancia a 260 nm deben estar entre 0,1 y 1,0 para ser exactas. Una absorbancia de 1 unidad a 260 nm corresponde a 50 μg de ADN por mililitro ($A_{260} = 1 = 50 \mu\text{g/ml}$).

Utilice tampón ATE para diluir las muestras y calibrar el espectrofotómetro.

El cociente entre los valores de absorbancia a 260 nm y 280 nm da una estimación de la pureza del ADN (consulte el apartado "Pureza del ADN" en la página 33).

Mida la absorbancia a 320, 280 y 260 nm. Reste la lectura de absorbancia obtenida a 320 nm de las lecturas obtenidas a 260 y 280 nm para realizar una corrección por la posible presencia de una lectura de fondo.

Utilice la siguiente fórmula para calcular la concentración y la producción de ADN:
Concentración de la muestra de ADN = $50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{factor de dilución}$.
Cantidad total de ADN purificado = concentración \times volumen de la muestra en mililitros.

En caso de que se hayan arrastrado partículas magnéticas en el eluido que podrían afectar a la aplicación posterior (p. ej., el ADN purificado va a analizarse mediante secuenciación capilar fluorescente), debe aplicarse primero el tubo que contiene el eluido a un separador magnético apropiado y transferirse el eluido a un tubo limpio (véase más adelante).

Si es necesario eliminar partículas magnéticas, aplique el tubo que contiene el ADN a un separador magnético adecuado (p. ej., QIAGEN 12-Tube Magnet; n.º de catálogo 36912) hasta que se separen las partículas magnéticas. Si el ADN se encuentra en microplacas, aplique la microplaca a un separador magnético adecuado (p. ej., QIAGEN 96-Well Magnet Type A; n.º de catálogo 36915) hasta que se separen las partículas magnéticas. Si no se dispone de un separador magnético adecuado, centrifugue el tubo que contiene el ADN durante 1 minuto a máxima velocidad en una microcentrifugadora para generar un sedimento con todas las partículas magnéticas que queden en el tubo.

Nota: Para conseguir una cuantificación exacta del ADN mediante absorbancia a 260 nm, recomendamos diluir la muestra en el tampón de elución correspondiente. La dilución de la muestra en agua puede dar lugar a valores inexactos. El tampón de elución tiene una absorbancia alta a 220 nm, que puede generar valores de absorbancia de fondo altos si el espectrofotómetro no está correctamente calibrado. La evaporación de los eluidos puede aumentar el riesgo de afectación de la medición, especialmente cuando se utilizan cantidades bajas de eluidos sin diluir. Con los kits QIASymphony DSP DNA se proporciona en un frasco aparte una cantidad adicional de tampón de elución para calibrar el espectrofotómetro.

Pureza del ADN

La pureza se determina calculando el cociente de la absorbancia corregida a 260 nm dividido por la absorbancia corregida a 280 nm; es decir, $(A_{260} - A_{320}) / (A_{280} - A_{320})$. El ADN puro tiene un cociente A_{260}/A_{280} de 1,7–1,9.

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de catálogo
QIASymphony DSP DNA Mini Kit (192)	Incluye 2 cartuchos de reactivos y gradillas de enzimas y accesorios.	937236
QIASymphony DSP DNA Midi Kit (96)	Incluye 2 cartuchos de reactivos y gradillas de enzimas y accesorios.	937255
Related products		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml de tampón ATL para utilizar con los protocolos de tejidos del instrumento QIASymphony.	939016
Deparaffinization Solution (1 x 50 ml)	1 x 50 ml Deparaffinization Solution for use with QIASymphony FFPE Tissue protocols	939018
Accessory Trough (10)	Recipientes accesorios para utilizar con el instrumento QIASymphony SP.	997012
Reagent Cartridge Holder (2)	Soporte de cartucho de reactivos para utilizar con el instrumento QIASymphony SP.	997008
Tube Insert, 2 ml, v2, sample carrier, Qsym	Adaptador para tubos secundarios (para tubos de tapa de rosca de 2 ml) para utilizar con el soporte para muestras del instrumento QIASymphony.	9242083
Tube Insert, 11 mm, Revision, sample carrier, Qsym	Adaptador para tubos primarios (11 mm) para utilizar con el soporte para muestras del instrumento QIASymphony.	9242057

Tube Insert, 13 mm, sample carrier, Qsym	Adaptador para tubos primarios (13 mm) para utilizar con el soporte para muestras del instrumento QIASymphony.	9242058
Cooling Adapter, 2 ml, V2, Qsym	Adaptador de refrigeración para tubos de tapa de rosca de 2 ml. Para utilizar en el cajón "Eluate" del instrumento QIASymphony.	9020674
Cooling Adapter, EMT, v2, Qsym	Adaptador de refrigeración para gradillas EMT. Para utilizar en el cajón "Eluate" del instrumento QIASymphony.	9020730
Sample Prep Cartridges, 8-well (336)	Cartuchos de preparación de muestras de 8 pocillos para utilizar con el instrumento QIASymphony SP.	997002
8-Rod Covers (144)	Cubiertas para 8 barras para utilizar con el instrumento QIASymphony SP.	997004
Filter-Tips, 200 µl (1024)	Puntas con filtro desechables, engradilladas (8 x 128). Para utilizar con el instrumento QIAcube® y con el instrumento QIASymphony SP.	990332
Filter-Tips, 1500 µl (1024)	Puntas con filtro desechables, engradilladas (8 x 128). Para utilizar con el instrumento QIASymphony SP/AS.	997024
Tip Disposal Bags (15)	Bolsas para eliminación de puntas para utilizar con el instrumento QIASymphony SP/AS.	9013395
12-Tube Magnet	Imán para separar las partículas magnéticas en 12 tubos de 1,5 ml o de 2 ml.	36912
96-Well Magnet Type A	Imán para separar las partículas magnéticas en pocillos de placas de 96 pocillos, 2 microplacas FB de 96 pocillos.	36915

S-Blocks (24)	Bloques de 96 pocillos de 2,2 ml, 24 por caja.	19585
Reuse Seal Set (20)	Conjuntos de sellado para reutilización para el sellado de cartuchos de reactivos del instrumento QIAasymphony.	997006
Elution Microtubes CL (24 x 96)	Tubos de polipropileno no estériles (capacidad máxima de 0,85 ml, menos de 0,7 ml de capacidad de almacenamiento, 0,4 ml de capacidad de elución); 2.304 en gradillas de 96; incluye tiras de tapas.	19588
QIAasymphony SP	Módulo de preparación de muestras QIAasymphony, garantía de 1 año para piezas y mano de obra.	9001297

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

Esta página se ha dejado en blanco intencionadamente.

Acuerdo de licencia limitada para los kits QIASymphony DSP DNA

1. La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del producto la aceptación de los siguientes términos:
El producto puede utilizarse únicamente conforme a los protocolos suministrados con el producto y a este manual y para su uso exclusivo con los componentes incluidos en el kit. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para incorporar o utilizar los componentes contenidos en este kit con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, en este manual y en los protocolos adicionales disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales han sido suministrados por usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. Estos protocolos no han sido rigurosamente comprobados ni optimizados por QIAGEN. QIAGEN no los garantiza ni ofrece garantías de que no infrinjan los derechos de terceros. Other than expressly stated licenses, QIAGEN makes no warranty that this kit and/or its use(s) do not infringe the rights of third-parties.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este kit ni su(s) uso(s) no infrinjan derechos de terceros.
3. Este kit y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no pueden ser reutilizados, reacondicionados ni revendidos.
4. QIAGEN específicamente renuncia a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del kit aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones que hayan sido 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 costes del juicio, incluidos los honorarios de abogacía, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de garantía limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y con sus componentes.

Para obtener los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

Marcas comerciales: QIAGEN®, QIASymphony® (QIAGEN Group); eNAT™ (Copan Italia S.P.A.); Corning® (Corning, Inc.); 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. 08/2015 HB-0977-004

© 2012–2015 QIAGEN, reservados todos los derechos.

Ordering www.qiagen.com/contact | Technical Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com