

Diciembre de 2020

# Hoja de protocolo del instrumento QIASymphony<sup>®</sup> SP

circDNA\_2000\_DSP\_V2 y  
circDNA\_4000\_DSP\_V2

Este documento es Hoja de protocolo del QIASymphony DSP Circulating DNA Kit, versión 2, R1

## Información general

Para uso diagnóstico in vitro.

Este protocolo está indicado para la purificación de ADN circulante libre humano a partir de plasma y orina humanos frescos o congelados utilizando el instrumento QIASymphony SP y el QIASymphony DSP Circulating DNA Kit.

|   |  |                         |
|---|--|-------------------------|
| <b>Kit</b>  | QIASymphony DSP Circulating DNA Kit<br>(N.º de cat. 937556)  |                         |
| <b>Material de muestra</b>                            | Plasma humano: anticoagulado con EDTA o citrato, o con ccfDNA estabilizado<br>Orina humana: no estabilizada o estabilizada |                         |
| <b>Nombre del protocolo</b>                           | circDNA_2000_DSP_V2  | circDNA_4000_DSP_V2     |
| <b>Conjunto de controles de ensayo predeterminado</b> | ACS_circDNA_2000_DSP_V2  | ACS_circDNA_4000_DSP_V2 |
| <b>Volumen de elución</b>                             | 60 µl  | 60 µl                   |
| <b>Versión del software requerida</b>                 | Versión 4.0 o superior   | Versión 5.0 o superior  |

## Cajón "Sample" (Muestras)

|                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| <b>Tipo de muestra</b>              | Plasma humano (consulte "Preparación del material de muestra") y orina humana (estabilizada o no estabilizada)   |
| <b>Volumen de muestra</b>           | Depende del tipo de tubo de muestra usado<br>Si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> . |
| <b>Tubos de muestra primarios</b>   | n/a  |
| <b>Tubos de muestra secundarios</b> | Si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> .  |
| <b>Insertos</b>                     | n/a  |
| <b>Otro</b>                         | La proteinasa K se debe añadir en la ranura A (posición 1 y/o 2)   |

n/a = no aplicable.

## Preparación de la proteinasa K en el cajón "Sample" (Muestras)

El QIASymphony DSP Circulating DNA Kit contiene solución de proteinasa K lista para usar que puede conservarse a temperatura ambiente (15-25 °C).

**Nota:** Se colocan tubos que contienen proteinasa K en un portatubos. Los tubos que contienen la proteinasa K deben colocarse en las posiciones 1 y/o 2 en la ranura A del cajón "Sample" (Muestras). Consulte el tipo de tubo necesario en la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

| Número de muestras* | circDNA_2000_DSP | circDNA_4000_DSP |
|---------------------|------------------|------------------|
| 8                   | 1.980 µl         | 2.860 µl         |
| 24                  | 3.740 µl         | 6.380 µl         |
| 48                  | 6.380 µl         | 11,660 µl        |
| 72                  | 9.020 µl         | 18,040 µl†       |
| 96                  | 11,660 µl        | 23,320 µl†       |

\* Para cada muestra se requieren 110 µl para circDNA\_2000\_DSP o 220 µl para circDNA\_4000\_DSP, más un volumen vacío adicional de 1.100 µl [(n x 110 o 220 µl) + 1.100 µl].

† Para circDNA\_4000\_DSP: Si se procesan más de 48 muestras, utilice un segundo tubo. El volumen de carga máximo de cada tubo es de 11.660 µl. Para el segundo tubo se requiere un volumen vacío adicional de 1.100 µl.

## Cajón "Reagents and Consumables" (Reactivos y consumibles)

|  |   |
|--|---|
| <b>Posición A1 y/o A2</b>                  | Cartucho de reactivos   |
| <b>Posición B1</b>                         | n/a   |
| <b>Soporte de gradillas de puntas 1-18</b> | Puntas con filtro desechables, 200 µl o 1.500 µl                                  |
| <b>Soporte de caja unitaria 1-4</b>        | Cajas unitarias que contienen cartuchos de preparación de muestras o 8-Rod Covers |

n/a = no aplicable.

## Cajón "Waste" (Residuos)

|   |                                   |
|---|-----------------------------------|
| <b>Soporte de caja unitaria 1-4</b>             | Cajas unitarias vacías            |
| <b>Soporte de la bolsa de desechos</b>          | Bolsa de desechos                 |
| <b>Soporte para frasco de desechos líquidos</b> | Frasco de desechos líquidos vacío |

## Cajón "Eluate" (Eluidos)

|  |   |
|--|---|
| <b>Gradilla de elución (se recomienda utilizar la ranura 1, posición de refrigeración)</b> | Si desea obtener más información, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en <a href="http://www.qiagen.com">www.qiagen.com</a> . |
|--|---|

## Materiales plásticos necesarios

### Protocolo circDNA\_2000\_DSP

| Material de plástico                            | Un lote<br>24 muestras* | Dos lotes<br>48 muestras* | Tres lotes<br>72 muestras* | Cuatro lotes<br>96 muestras* |
|---|-------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|
| <b>Puntas con filtro desechables, 200 µl†</b>   | 28                      | 56                        | 84                         | 112                          |
| <b>Puntas con filtro desechables, 1.500 µl†</b> | 56                      | 112                       | 168                        | 224                          |
| <b>Cartuchos de preparación de muestras§</b>    | 15                      | 30                        | 45                         | 60                           |
| <b>8-Rod Covers¶</b>                            | 3                       | 6                         | 9                          | 12                           |

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

† Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas de filtro.

‡ 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-Rod Covers por caja unitaria.

Protocolo circDNA\_4000\_DSP

| Material de plástico                         | Un lote<br>24 muestras* | Dos lotes<br>48 muestras* | Tres lotes<br>72 muestras* | Cuatro lotes<br>96 muestras* |
|--|-------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|
| Puntas con filtro desechables,<br>200 µl†‡   | 28                      | 56                        | 84                         | 112                          |
| Puntas con filtro desechables,<br>1.500 µl†‡ | 96                      | 192                       | 288                        | 384                          |
| Cartuchos de preparación de<br>muestras§     | 18                      | 36                        | 54                         | 72                           |
| 8-Rod Covers¶                                | 3                       | 6                         | 9                          | 12                           |

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

† Hay 32 puntas con filtro por gradilla de puntas de filtro.

‡ 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-Rod Covers por caja unitaria.

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

## Volumen de elución

| Volumen de elución seleccionado | Volumen de elución inicial |
|---------------------------------|----------------------------|
| 60 µl                           | 75 µl                      |

El volumen de elución se selecciona en la pantalla táctil. El volumen de elución medio disponible es de  $\geq 60$  µl. En casos individuales, el volumen de eluido final para determinadas muestras puede ser hasta 5 µl menor que el volumen seleccionado (p. ej., 55 µl). Se recomienda comprobar el volumen de eluido real cuando se utilice un sistema de preparación automatizada del ensayo que no verifique el volumen de eluido antes de la transferencia.

## Conservación de los eluidos

Se recomienda retirar la placa de eluidos del cajón "Eluate" (Eluidos) nada más finalizar la serie. Las placas de elución se pueden dejar en el instrumento QIASymphony SP una vez haya finalizado la serie durante la noche (como máximo 16 horas, incluido el tiempo de la serie; condiciones ambientales recomendadas: 18-26 °C y 20-75% de humedad relativa). Dependiendo de la temperatura y de la humedad, el eluido puede experimentar condensación o evaporación.

Después de la preparación de la muestra, los eluidos pueden conservarse a 2-8 °C hasta 1 mes. Para la conservación a largo plazo, los eluidos pueden conservarse a temperaturas de -30 a -15 °C o de -90 a -65 °C. Los eluidos congelados no deben descongelarse más de 3 veces.

## 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.

### Cuestiones importantes antes de comenzar

- Evite la formación de espuma en el interior o en la superficie de las muestras.
- Las muestras deben equilibrarse a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de comenzar la serie.

### Plasma humano

Para la obtención de plasma, se pueden utilizar muestras de sangre con EDTA o citrato como anticoagulante. También se puede utilizar plasma preparado a partir de tubos de recogida de sangre estabilizadores de ccfDNA. El plasma se obtiene de acuerdo con las especificaciones del fabricante.

Si se utiliza EDTA o citrato como anticoagulante, se recomienda separar el plasma inmediatamente después de la extracción de la sangre.

Para determinadas aplicaciones posteriores puede ser necesario excluir o minimizar los ácidos nucleicos procedentes de vesículas. En estos casos, se recomienda intercalar un paso de centrifugado de alta velocidad a 16.000 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C) después de la obtención inicial del plasma.

Una vez extraído y centrifugado, el plasma puede conservarse a temperatura ambiente hasta 7 días y a 2-8 °C hasta un máximo de 14 días. Para una conservación más larga, se recomienda congelar las alícuotas a -20 °C o a -80 °C. El plasma congelado no debe descongelarse más de 3 veces. La congelación y descongelación repetidas desnaturaliza y precipita las proteínas, lo que puede provocar una disminución de la cantidad de ácidos nucleicos circulantes libres. Si en las muestras se aprecian crioprecipitados, centrifugue a 6.800 x g durante 3 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C) y transfiera los sobrenadantes a un tubo de muestra secundario sin alterar los precipitados (consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)). Inicie inmediatamente el procedimiento de purificación.

## Orina humana

Debido a la degradación rápida del ADN circulante libre después de la recolección de la orina, se recomienda enfáticamente estabilizar las muestras de orina sin demora.

### Orina humana estabilizada

La orina estabilizada se puede conservar a temperatura ambiente (15-25 °C) o a 2-8 °C durante un máximo de 7 días. Para una conservación más larga, se recomienda congelar las alícuotas a temperaturas de -30 a -15 °C o de -90 a -65 °C.

Las muestras de orina estabilizadas no requieren ningún pretratamiento. Tras la estabilización, se recomienda centrifugar las muestras de orina a baja velocidad (1.900 x g) durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C) para eliminar las células antes de proceder a la extracción del ADN circulante libre. Se después del centrifugado se aprecian precipitados en los sobrenadantes, caliente las muestras a 25 °C en un baño de agua para disolverlos. Antes de comenzar una serie, transfiera las muestras de orina estabilizadas a un tubo de muestra secundario y después cargue este tubo en el soporte para muestras (consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

### Orina humana “no estabilizada”

Antes de comenzar un protocolo que requiera el uso del Buffer ATL, compruebe si se ha formado precipitado en el Buffer ATL. En caso necesario, disuélvalo calentando el tampón en un baño de agua a 70 °C agitando suavemente. Aspire las burbujas presentes en la superficie del Buffer ATL.

**Nota:** El Buffer ATL (Buffer ATL, 4 x 50 ml, N.º de cat. 939016) no forma parte del QIAasymphony DSP Circulating DNA Kit y se debe pedir por separado.

Se recomienda centrifugar las muestras de orina inmediatamente después de la recolección a baja velocidad (1.900 x g) durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C) para eliminar las células. Las muestras de orina no estabilizadas requieren un pretratamiento.

**Importante:** Antes de iniciar el pretratamiento, deje que las muestras se equilibren a temperatura ambiente (15-25 °C).

**Importante:** El centrifugado y el pretratamiento deben realizarse en las 4 horas siguientes a la recolección de la muestra de orina.

- Mezcle 2.500 µl de orina (circDNA\_2000\_DSP) o 4.500 µl de orina (circDNA\_4000\_DSP) con 250 µl o 450 µl de Buffer ATL, respectivamente.
- Incube las muestras a temperatura ambiente (15-25 °C) durante 1 hora.

- Centrifugue las muestras a 1.900 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente (15-25 °C).  
Se después del centrifugado se aprecian precipitados en el sobrenadante, caliente las muestras a 25 °C en un baño de agua para disolverlos.
- Transfiera los sobrenadantes a un tubo de muestra secundario y después cargue este tubo en el soporte para muestras (consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com))

**Importante:** La estabilidad e integridad del ADN circulante libre están limitadas en muestras de orina no estabilizadas. Se recomienda cargar como máximo un lote de 24 muestras para cada serie de QIAAsymphony a fin de minimizar el tiempo de permanencia en el instrumento de las muestras de orina.

## Sustancias interferentes

Las muestras de plasma con altas concentraciones de gammaglobulina (>30 g/l) pueden reducir la recuperación del ADN circulante libre.

## Historial de revisiones

| Fecha                              | Cambios          |
|------------------------------------|------------------|
| Versión 2, R1<br>Diciembre de 2020 | Versión inicial. |

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de uso y los manuales del kit de QIAGEN están disponibles en [www.qiagen.com](http://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). Debe considerarse que los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. que se utilizan en este documento, aunque no aparezcan marcados como tales, están protegidos por la ley.

12/2020 HB-2309-S02-001 © 2020 QIAGEN. Reservados todos los derechos.



---

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)