

Marzo 2017

Manual de instrucciones de uso del kit QIAasymphony[®] DSP Circulating DNA



192

Versión 1



Para uso diagnóstico *in vitro*



937556



QIAGEN GmbH,
QIAGEN Strasse 1,
40724 Hilden
ALEMANIA



1103177ES

Contenido

Uso previsto	3
Resumen y descripción	3
Principios del procedimiento	4
Materiales suministrados	7
Contenido del kit	7
Materiales necesarios pero no suministrados	8
Advertencias y precauciones.....	10
Conservación y manipulación de los reactivos	12
Componentes del kit	12
Recogida y preparación de las muestras	13
Procedimiento	14
Purificación automatizada en QIAasymphony SP	14
Protocolo: Purificación de ADN circulante libre	21
Control de calidad.....	24
Limitaciones	25
Símbolos	26
Guía para la resolución de problemas	28
Apéndice: Cuantificación de ADN circulante libre.....	32
Información para pedidos.....	33

Uso previsto

El kit QIASymphony DSP Circulating DNA utiliza tecnología de partículas magnéticas para el aislamiento y la purificación automatizados de ADN circulante libre humano partir de muestras biológicas.

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

El kit QIASymphony DSP Circulating DNA se ha diseñado para diagnóstico *in vitro*.

Resumen y descripción

Los ácidos nucleicos circulantes libres (ccfDNA) suelen estar presentes en plasma o en orina como fragmentos cortos, <1.000 bp (ADN) <1.000 nt (ARN), o incluso de 20 nt (miARN). La concentración de los ácidos nucleicos circulantes libres en los líquidos biológicos, como plasma y orina, suele ser baja y varía considerablemente entre los sujetos. Para el ccfDNA, la concentración puede variar entre 1 y 100 ng/ml. El sistema QIASymphony DSP Circulating DNA constituye un sistema *in vitro* listo para usar para la purificación cualitativa de ADN circulante libre humano procedente de plasma humano y orina mediante el instrumento QIASymphony SP.

El kit QIASymphony DSP Circulating DNA proporciona reactivos para la purificación totalmente automatizada y simultánea de ccfDNA humano procedente de muestras biológicas. La característica de rendimiento para cada tubo de recogida de sangre no se ha especificado y debe ser validada por el usuario. La tecnología de partículas magnéticas permite purificar ácidos nucleicos de alta calidad que carecen de proteínas, nucleasas y otras impurezas. El ccfDNA es compatible con una amplia gama de aplicaciones subsiguientes. El instrumento QIASymphony SP realiza todos los pasos del procedimiento de purificación. En

una sola serie se procesan hasta 96 muestras, en lotes de 24. Puede ser necesario un pretratamiento manual de las muestras de orina.

Principios del procedimiento

La tecnología QIASymphony combina la velocidad y la eficiencia de la purificación de ácidos nucleicos basada en la sílice con la cómoda manipulación de las partículas magnéticas (figura 1 siguiente). El procedimiento de purificación está diseñado para garantizar una manipulación segura y reproducible de muestras potencialmente infecciosas, y comprende 3 pasos: unión, lavado y elución (consulte el organigrama de la página 6). El usuario puede elegir entre distintos volúmenes de introducción de muestras.

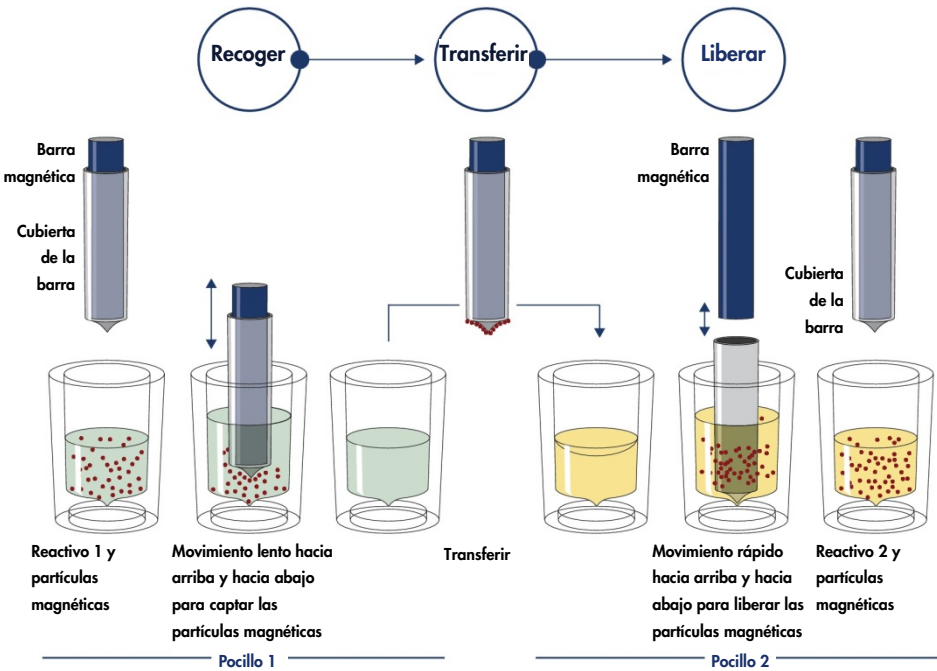
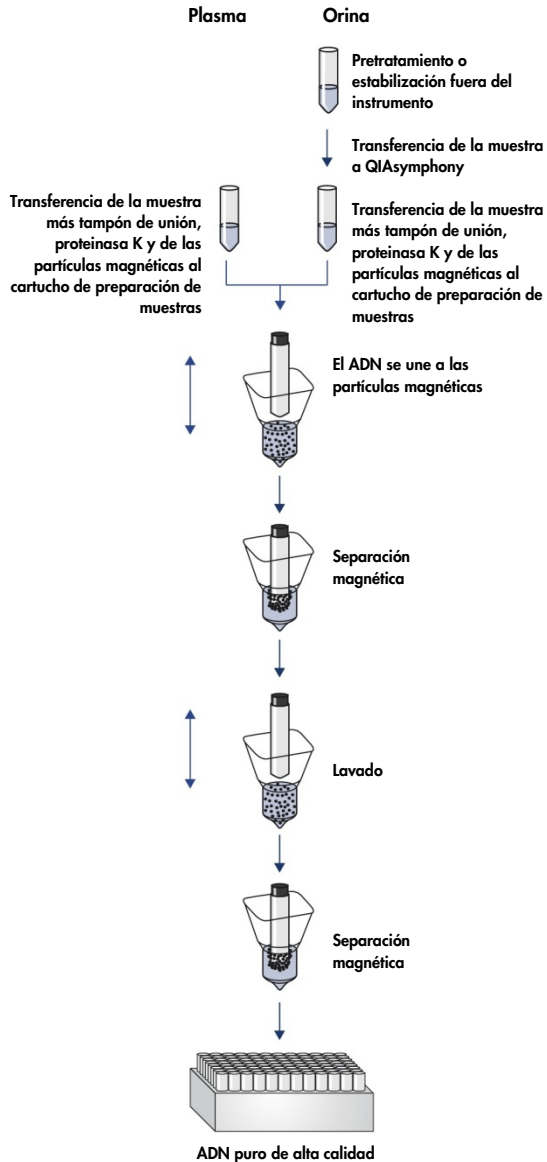


Figura 1. Diagrama esquemático del principio QIASymphony SP. El instrumento QIASymphony SP procesa una muestra que contiene partículas magnéticas de la forma siguiente: Una barra magnética

protegida por una cubierta de barra 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. Estos pasos se repiten varias veces durante el procesamiento de las muestras. El instrumento QIASymphony SP utiliza un cabezal magnético que contiene una matriz de 24 barras magnéticas, de modo que puede procesar simultáneamente un máximo de 24 muestras.

Procedimiento QIASymphony DSP Circulating



Materiales suministrados

Contenido del kit

QIASymphony DSP Circulating DNA Kit		(192)		
Número de catálogo		937556		
Número de reacciones		192		
Identidad		Cantidad		
RC	Reagent cartridge (Cartucho de reactivos)*	<table border="1"><tr><td>REAG</td><td>CART</td></tr></table> †	REAG	CART
REAG	CART			
PROTK	QIAGEN Proteinase K (Proteinasa K QIAGEN)	6 x 10 ml		
PL	Piercing lid (Tapa de perforación)	2		
RSS	Reuse Seal Set (Juego de sellado para reutilización)‡	2		
	Manual de instrucciones de uso	1		

* Contiene azida sódica como conservante.

† Consulte la lista de símbolos y definiciones en la página 26.

‡ Un juego de sellado para reutilización contiene 8 tiras de sellado para reutilización.

Materiales necesarios pero 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 (*safety data sheets*, SDS) correspondientes que el proveedor del producto pone a su disposición.

Asegúrese de que los instrumentos hayan sido verificados y calibrados siguiendo las recomendaciones del fabricante.

- QIAsymphony SP (n.º de catálogo 9001297)
- Sample Prep Cartridges, 8-well cartridges (Cartuchos de preparación de muestras, cartuchos de 8 pocillos) (n.º de catálogo 997002)
- 8-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 muestras. Para formatos compatibles de los tubos de muestras primarios y secundarios, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en **www.qiagen.com**.
- Tubos o placas de elución. Para formatos compatibles de los tubos y placas de elución, consulte la lista de materiales de laboratorio que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en **www.qiagen.com**.
- Tampón fosfato salino (PBS, puede ser necesario para completar los volúmenes de muestra)
- Agitadora vorticial
- Buffer ATL (tampón ATL) (para el pretratamiento de las muestras de orina; n.º de catálogo 939016)

-
- Para materiales adicionales necesarios para el pretratamiento y la estabilización de las muestras de orina, consulte la hoja del protocolo que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en **www.qiagen.com**.

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 (*safety data sheets*, SDS) correspondientes. Dichas fichas están disponibles *online* en un formato PDF en www.qiagen.com/safety, donde podrá encontrar, ver e imprimir la ficha de datos de seguridad de cada kit de QIAGEN y de cada componente del kit.

ADVERTENC Riesgo de lesiones personales

IA



No añada lejía ni soluciones ácidas directamente a los residuos de la preparación de muestras.

Los tampones en el cartucho de reactivos (RC) contienen azida sódica. Si se derrama tampones de los kit, límpielos con un detergente de laboratorio adecuado y agua. Si el líquido derramado contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie primero la zona afectada con agua y detergente de laboratorio y a continuación con hipoclorito sódico al 1 % (v/v).

Las siguientes frases relativas a los riesgos y a la seguridad se aplican a los componentes del kit QIASymphony DSP Circulating DNA.

MBS3

Contiene: Azida sódica. ¡Advertencia! Puede ser nocivo por ingestión. Llame a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico si se siente mal.

Proteinasa K



Contiene: Proteinasa K. ¡Peligro! Causa irritación leve de la piel. Puede causar síntomas alérgicos o asmáticos o dificultad para respirar si se inhala. Evítese respirar polvo/humo/gas/nebulizaciones/vapores/pulverizaciones. Elimínense el contenido y el recipiente en un centro autorizado para la eliminación de residuos. Si se presentan síntomas respiratorios: Llámese a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico. EN CASO DE INHALACIÓN: En caso de dificultad para respirar, alejar a la víctima de la zona contaminada y mantenerla en reposo en una posición cómoda para respirar. Úsese protección respiratoria.

QSE2



¡Peligro! Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares. Elimínense el contenido y el recipiente en un centro autorizado para la eliminación de residuos. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Lávense con cuidado con agua durante varios minutos. Si se llevan lentes de contacto, quítense si resulta fácil. Continúese lavando los ojos. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el cabello): Quítense inmediatamente la ropa manchada o salpicada. Lávese la piel con agua o dúchese. Llámese inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico. Consérvese bajo llave. Úsese guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara.

QSW9



Contiene: etanol. ¡Peligro! Causa irritación grave de los ojos. Líquido y vapor fácilmente inflamables. Elimínense el contenido y el recipiente en un centro autorizado para la eliminación de residuos. Si la irritación ocular persiste: Acúdase a un médico. Conservar alejado del calor, chispas, llamas abiertas y superficies calientes. - No fumar. Consérvese en lugar bien ventilado. Consérvese fresco. Úsense guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara

Conservación y manipulación de los reactivos

El kit QIASymphony DSP Circulating DNA debe almacenarse en posición vertical a temperatura ambiente (15–25 °C). Las partículas magnéticas de los cartuchos de reactivos (RC) mantienen su actividad cuando se conservan a dicha temperatura.

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

No utilice el kit QIASymphony DSP Circulating DNA si ha caducado.

Componentes del kit

El kit QIASymphony DSP Circulating 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 conservarse durante un máximo de 4 semanas, lo que permite una reutilización rentable de los reactivos y un procesamiento más flexible de las muestras. 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 serie del protocolo para evitar la evaporación.

Para evitar la evaporación de reactivos, el cartucho de reactivos (RC) debe estar abierto durante un máximo de 15 horas (incluidos los tiempos de procesamiento) a una temperatura ambiente máxima de 32 °C. El almacenamiento incorrecto de los componentes del kit puede acelerar el envejecimiento de los tampones.

El procesamiento 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 (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

Para 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 del protocolo correspondiente que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Procedimiento

Purificación automatizada en QIAasymphony SP

El instrumento QIAasymphony 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 serie. Inicie el protocolo y retire el ADN purificado del cajón "Eluate" (Eluidos) una vez finalizado el procesamiento. Consulte los manuales del usuario suministrados con el 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/dsphandbooks.

Carga de los cartuchos de reactivos (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) (ver figura 2, página 15). Cada recipiente del cartucho de reactivos (RC) contiene un reactivo concreto, como partículas magnéticas, tampón de unión, 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 (RSS) 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 QIAAsymphony. 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 están completamente en suspensión. Retire el recipiente de partículas magnéticas del bastidor del cartucho de reactivos, mézclelo enérgicamente mediante agitación vorticial durante al menos 3 minutos y vuelva a colocarlo en el bastidor del cartucho de reactivos antes del primer uso.

Nota: las partículas magnéticas pueden cambiar el color. Esto no afecta al rendimiento.

Coloque el cartucho de reactivos (RC) 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, above).

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 sobre el cartucho de reactivos (RC).

Una vez retirada la cubierta del recipiente de partículas magnéticas, se carga el cartucho de reactivos (RC) en el cajón "Reagents and Consumables".

Los cartuchos de reactivos (RC) parcialmente usados pueden almacenarse hasta que vuelvan a necesitarse (consulte "Reagent Storage and Handling" en la página 12).

Nota: Se debe añadir proteasa K de acuerdo con la información proporcionada en la hoja del protocolo, en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Nota: Asegúrese de que los cartuchos de reactivos, los recipientes de partículas magnéticas y los frascos de proteinasa K no se intercambien entre diferentes lotes del kit.

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 1500 µl suministradas en gradillas negras).

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 instrumento QIASymphony SP aceptan cualquiera de los dos tipos de gradilla de puntas. El instrumento 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 para las cubiertas para 8 barras antes de iniciar otra serie del

protocolo. El instrumento QIASymphony SP puede utilizar cajas unitarias y gradillas de puntas parcialmente usadas.

Para los consumibles necesarios, consulte la hoja del protocolo correspondiente que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com. Si desea obtener información para pedidos de material de plástico, consulte la página 33.

Carga del cajón "Waste" (Desechos)

Los cartuchos de preparación de muestras y las cubiertas para 8 barras utilizadas durante una serie se vuelven a engradillar en cajas unitarias vacías en el cajón "Waste". Asegúrese de que el cajón "Waste" contiene suficientes cajas unitarias vacías para el material de plástico de desecho que se genera durante la serie 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 cartuchos de preparación de muestras y cubiertas para 8 barras usados, asegúrese de haber retirado el separador 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 está correctamente acoplada antes de iniciar una serie del protocolo. Si desea obtener más información, consulte los manuales del usuario suministrados con el instrumento. Vacíe la bolsa para 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 procedimiento de purificación. El cajón "Waste" solamente puede cerrarse si el recipiente para desechos está colocado en su posición. Elimine los desechos líquidos de conformidad

con la normativa local en materia de seguridad y medio ambiente. No esterilice en autoclave el bote de desechos lleno. Vacíe el bote de desechos después de procesar un máximo de 96 muestras.

Carga del cajón "Eluate"

Cargue la gradilla de elución requerida en el cajón "Eluate". Dado que la conservación a largo plazo de eluidos en el cajón "Eluate" puede dar lugar a la evaporación o condensación, se debe utilizar la posición de refrigeración. Utilice solo la ranura "Elution slot 1" (Ranura de elución 1) con el adaptador de refrigeración correspondiente.

Examen de inventario

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

Preparación del material de muestra

Los kit QIASymphony DSP Circulating DNA están diseñados para la purificación automatizada de ADN circulante libre humano procedente de plasma humano y orina (tabla 1, página 20).

Evite la formación de espuma en el interior o en la superficie de las muestras. La espuma en las muestras puede provocar el pipeteado de un volumen de muestra incorrecto. Dependiendo del material de partida, es posible que sea necesario realizar un pretratamiento de la muestra. Las muestras deben estabilizarse a temperatura ambiente (15-25 °C) antes de comenzar la serie.

Para 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 del protocolo correspondiente que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Almacenamiento del ADN

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 –20 °C o a –80 °C. Los eluidos congelados no deben descongelarse más de tres veces.

Visión general de los protocolos

Tabla 1. Visión general de los protocolos

Muestra	Volumen de muestra (µl)	Volumen de elución (µl)	Protocolo QIAasymphony SP
Plasma, orina	2.000	60	circDNA_2000_DSP
	4.000	60	circDNA_4000_DSP

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Asegúrese de que sabe manejar bien el instrumento QIAasymphony SP. Consulte los manuales del usuario suministrados con el 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 “Principles of the Procedure”, en la página 4.
- Asegúrese de estar familiarizado con la hoja del protocolo correspondiente al procedimiento que desea utilizar. Encontrará las hojas del protocolo en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.
- Evite agitar de manera enérgica el cartucho de reactivos (RC), ya que podría formarse espuma, lo cual puede provocar problemas para la detección del nivel de líquido.
- Antes de comenzar un pretratamiento que requiera el uso del tampón ATL, compruebe si se ha formado precipitado en el tampón ATL. En caso necesario, disuelva el precipitado calentando el tampón en un baño María a 70 °C agitando suavemente. Aspire las burbujas presentes en la superficie del tampón ATL.

Antes de comenzar

- Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas están completamente en suspensión. Mezcle enérgicamente 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 está colocada sobre el cartucho de reactivos y de que la tapa del recipiente de partículas magnéticas se ha retirado o, si se está utilizando un cartucho de reactivos parcialmente usado, asegúrese de que se han retirado las tiras de sellado para reutilización.
- La proteinasa K no está incluida en el cartucho de reactivos y debe ser proporcionada por el usuario (cajón de muestras, ranura A, posición 1 o 2). Asegúrese de que se disponga del volumen correcto de proteinasa K. Para información detallada, consulte la hoja del protocolo que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.
- Si las muestras tienen un código de barras, oriéntelas en el soporte de tubos de forma que los códigos de barras miren hacia el lector de códigos de barras situado en el lado izquierdo del instrumento QIASymphony SP.
- Para información sobre tubos de muestra compatibles con un protocolo determinado, consulte la lista de materiales de laboratorio correspondiente que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.
- Para información sobre volúmenes de muestra mínimos para tubos secundarios, consulte la lista de materiales de laboratorio correspondiente que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en www.qiagen.com.

Protocolo: Purificación de ADN circulante libre

A continuación se describe un protocolo general para usar los kits QIASymphony DSP. Se proporciona información detallada para cada protocolo, incluidos los volúmenes y tubos, en

la hoja del protocolo que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en **www.qiagen.com**.

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. 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 "Elution slot 1" con el adaptador de refrigeración correspondiente.

Si utiliza una placa de 96 pocillos, asegúrese de que la placa está 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.

5. Asegúrese de que el cajón "Waste" está correctamente preparado y, a continuación, realice un examen de inventario de dicho cajón, incluidos el conducto para puntas y el recipiente para desechos líquidos. Sustituya la bolsa para eliminación de puntas en caso necesario.
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).

- Mediante la pantalla táctil, introduzca la información requerida para cada lote de muestras y para la proteinasa K 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 de ensayo).
- Volumen de elución y posición de salida.

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** (Serie).

- Coloque la proteinasa K en el soporte para muestras adecuado en la posición 1 o 2 y cárguela en la ranura A del cajón "Sample" (Muestras).

- Defina la proteinasa K pulsando el botón **IC**.

- Pulse el botón **Run** para comenzar el procedimiento de purificación.

Todos los pasos del procesamiento están totalmente automatizados. Al finalizar la ejecución del protocolo, el estado del lote cambia de **RUNNING** (EN PROCESAMIENTO) a **COMPLETED** (FINALIZADO).

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

- El ADN está listo para usar o puede guardarse a 2–8 °C, –20 °C o –80 °C.

Recomendamos retirar la placa de eluidos del cajón "Eluate" nada más finalizar la serie. Dependiendo de la temperatura y de la humedad, las placas de elución dejadas en el instrumento QIASymphony SP una vez finalizada la serie 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 “Appendix: Quantification of circulating cell-free DNA”, página 32).

Se generan archivos de resultados para cada placa de elución.

15. Si utiliza un cartucho de reactivos solo parcialmente, séllelo inmediatamente con las tiras de sellado para reutilización suministradas después de finalizar la ejecución del protocolo, para evitar la evaporación.

Nota: Para obtener más información sobre el almacenamiento de cartuchos de reactivos (RC) parcialmente usados, consulte “Reagent Storage and Handling” en la página 12.

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

Consulte “Warnings and Precautions” en la página 10 si desea obtener información relativa a la seguridad.

17. Limpie el instrumento QIA Symphony SP.

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

18. Cierre los cajones del instrumento y apague el instrumento QIA Symphony SP.

Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del kit QIA Symphony DSP Circulating DNA se analiza en relación con 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 ADN circulante libre humano procedente de plasma y orina humanos .

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* (Conferencia Internacional sobre Armonización de los requisitos técnicos) (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 datos clínicos o de laboratorio.

Símbolos

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



<N>

Contiene reactivos suficientes para <N> reacciones



Fecha de caducidad



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Número de catálogo



Número de lote



Número de material (es decir, etiquetado del componente)



Componentes (es decir, una lista del material incluido)



Contiene (contenido)



Número (es decir, viales, frascos)



Número mundial de artículo comercial (*Global Trade Item Number*)

Rn

R es la revisión del Manual de instrucciones de uso, y n es el número de revisión



Limitación de temperatura



Fabricante



Consultar instrucciones de uso



Precaución



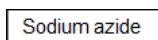
Proteínasa K



Número de recipiente (es decir, recipiente del cartucho de reactivos)



Cartucho de reactivos



Azida sódica

Guía para la resolución de problemas

Esta guía para la resolución de problemas le será de utilidad para resolver los problemas que puedan surgir. Si desea obtener la información de contacto, consulte la contracubierta o visite www.qiagen.com.

Comentarios y sugerencias

Manipulación general

Aparece un mensaje de error en la pantalla táctil

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

Precipitado en el recipiente de reactivos de un cartucho abierto del kit QIAasymphony DSP

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 disolución amortiguadora 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.

Rendimiento bajo de ADN

a) Las partículas magnéticas no se resuspendieron completamente

Antes de comenzar el procedimiento, asegúrese de que las partículas magnéticas están completamente

Comentarios y sugerencias

- resuspendidas. Mezcle mediante agitación vorticial durante al menos 3 minutos antes del uso.
- b) 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 QIAAsymphony.
- En caso necesario, utilice los procedimientos de pretratamiento descritos en las hojas del protocolo correspondientes que encontrará en la pestaña de recursos de la página de productos en **www.qiagen.com**.
- c) El material de muestra contiene una concentración baja de ADN circulante libre
- Debido a las cantidades muy bajas de ADN circulante libre, es posible que en función del método de cuantificación utilizado, no se detecte la concentración de ADN.
- Se recomienda utilizar una PCR cuantitativa (*quantitative polymerase chain reaction*, qPCR) para comprobar la concentración de ADN en los eluidos.
- d) Cierre incompleto del cartucho de reactivos
- El contacto con el aire del entorno puede reducir la estabilidad de los tampones y reducir en consecuencia la eficacia de la extracción de ccfDNA con un cartucho de reactivos (RC) parcialmente usado. Asegúrese de sellar meticulosamente los recipientes de tampón de un cartucho de reactivos parcialmente usado con las tiras de sellado para reutilización cuando no se estén utilizando para la purificación.

Comentarios y sugerencias

- e) Degradación rápida del ADN circulante libre en muestras de orina no estabilizadas
- Debido a la degradación rápida del ADN circulante libre en muestras de orina no estabilizadas después de la recolección, es posible que no se detecte o solo se detecten concentraciones bajas de ADN en los eluidos. Se recomienda estabilizar las muestras de orina como se describe en la hoja del protocolo correspondiente.
- bien, someta las muestras de orina inmediatamente después de la recolección y el centrifugado a un pretratamiento con ATL y a una extracción de ADN posterior en el instrumento, como se describe en la hoja del protocolo correspondiente.

No hay transferencia de muestras o transferencia de muestras incompleta

- a) Se carga un volumen de muestra incorrecto
- Si se carga un volumen de muestra inferior a 2,4 ml e inferior a 4,5 ml respectivamente, hay un mayor riesgo de que la muestra presente una marca ambigua o de que no se transfiera la muestra (marca inválida).
- Cargue el volumen de muestra correcto como se describe en la lista de materiales de laboratorio correspondiente. Si la cantidad de muestra es insuficiente, añada PBS a la muestra hasta obtener el volumen necesario antes de cargar la muestra.
- b) Burbujas o espuma en el tubo de muestras.
- Las burbujas o espuma en la muestra o en el tubo de introducción de muestras puede provocar una

Comentarios y sugerencias

detección incorrecta del nivel de líquido y una transferencia posterior incompleta de la muestra. Elimine las burbujas del tubo de muestras.

Burbujas en las puntas durante el funcionamiento del instrumento

Utilización de material de laboratorio FIX en combinación con un volumen reducido de introducción de muestras

Si se carga un volumen de muestra inferior a 2,1 ml e inferior a 4,1 ml, respectivamente utilizando material de laboratorio FIX, hay un mayor riesgo de que se produzca una transferencia reducida del volumen de muestra que no es detectada por el instrumento. Esto puede producir formación de burbujas durante la transferencia de la muestra o el paso de unión posterior.

Si utiliza material de laboratorio FIX, cargue el volumen de muestra correcto como se describe en la lista de materiales de laboratorio correspondiente. Si la cantidad de muestra es insuficiente, añada PBS a la muestra hasta obtener el volumen necesario antes de cargar la muestra.

Apéndice: Cuantificación de ADN circulante libre

Debido a las concentraciones muy bajas de ADN circulante libre en los materiales de muestra, no se recomienda efectuar la medición del ADN con un espectrofotómetro. Para determinar la concentración de ADN circulante libre se recomienda utilizar un ensayo de cuantificación sensible y preciso basado en fluorescencia o un ensayo de PCR en tiempo real.

Si fuese necesario eliminar las partículas magnéticas, aplique el tubo que contiene el ADN a un separador magnético adecuado (p. ej., QIAGEN 12-Tube Magnet (imán de 12 tubos QIAGEN), n.º de catálogo 36912) hasta que se separen las partículas magnéticas.

Si el ADNA se encuentra en microplaca, aplique la microplaca a un separador magnético adecuado (p. ej., QIAGEN 96-Well Magnet Type A (imán de 96 pocillos tipo A QIAGEN) 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.

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de catálogo
QIASymphony DSP Circulating DNA Kit (192)	Incluye 2 cartuchos de reactivos y tubos con proteinasa K y accesorios	937556
QIASymphony SP		
QIASymphony SP	Módulo de preparación de muestras QIASymphony, garantía de 1 año para piezas y mano de obra	9001297
Productos relacionados		
Buffer ATL (4 x 50 ml)	4 x 50 ml de tampón ATL para el pretratamiento de muestras de orina	939016
Proteinase K (10 ml)	1 frasco de 10 ml	1105392
Reagent Cartridge Holder (2)	Soporte de cartucho de reactivos para utilizar con el instrumento QIASymphony SP	997008
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
Cooling Adapter, Snap-Cap Microtube QIASymphony, Qsym	Adaptador de refrigeración para tubos Eppendorf® LoBind Snap Cap Safe-Lock de 1,5 ml. Para utilizar en el cajón "Eluate" del instrumento QIASymphony	9020731

Producto	Contenido	N.º de catálogo
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/AS.	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	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
Reuse Seal Set (20)	Juegos de sellado para reutilización para el sellado de cartuchos de reactivos del instrumento QIASymphony parcialmente usados	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	19588

Producto	Contenido	N.º de catálogo
	almacenamiento, 0,4 ml de capacidad de elución); 2.304 en gradillas de 96; incluye tiras de tapas	

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o el manual del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de uso y los manuales del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al Servicio Técnico de QIAGEN o al distribuidor local.

La compra de este producto permite al comprador utilizarlo para la realización de servicios de diagnóstico *in vitro* en seres humanos. Por la presente no se otorga ninguna patente general ni ninguna otra licencia de ningún tipo distinta de este derecho específico de uso derivado de la compra.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QIASymphony®, QIAcube® (QIAGEN Group); Eppendorf® [Eppendorf AG].

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.

Acuerdo de licencia limitada para el kit QIASymphony DSP Circulating DNA

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 este manual de uso 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.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este kit ni su(s) uso(s) no infrinjan los 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 niega específicamente 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 licencia 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.

HB-2309-002 1103177ES 157018501 03/2017

© 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

